FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Année 1928

THÈSE

N° 126

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Jacques-Charles-Georges-Joseph COLAS-BELCOUR

Né à Caen (Calvados) le 17 Avril 1894

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA BIOLOGIE DES FORMES LARVAIRES DES PHLÉBOTOMES

Président : M. le Professeur E. Brumpt

René-P. COLAS, Imprimeur-Editeur
Rue Royale, Bayeux

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

ANNÉE 1928

THÈSE

N°

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE

(Diplôme d'Etat)

PAR

Jacques-Charles-Georges-Joseph COLAS-BELCOUR

Né à Caen (Calvados) le 17 Avril 1894

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT ET DE LA BIOLOGIE DES FORMES LARVAIRES DES PHLÉBOTOMES

Président : M. le Professeur E. BRUMPT

RENÉ-P. COLAS, IMPRIMEUR-EDITEUR
Rue Royale, Bayeux

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS

Doyen ..... M. ROGER.

I. — Professeurs	MM.
Anatomie	ROUVIÈRE.
Anatomie médico-chirurgicale	CUNÉO.
Physiologie	ROGER.
Physique médicale	STROHL.
Chimie organique et chimie générale	DESGREZ.
Bactériologie	LEMIERRE.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	Marcel LABBÉ.
Pathologie médicale	SICARD.
Pathologie chirurgicale	LECÈNE
Anatomie pathologique	ROUSSY.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	TIFFENEAU.
Thérapeutique	LOEPER.
Hygiène	Léon BERNARD.
Médecine légale	BALTHAZARD.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	MÉNÉTRIER.
Pathologie expérimentale et comparée	RATHERY.
Clinique médicale	CARNOT. BEZANÇON. ACHARD. WIDAL.
Hygiène et clinique de la première enfance	MARFAN.
Clinique des maladies des enfants	NOBÉCOURT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	H. CLAUDE.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques...	JEANSELME.
Clinique des maladies du système nerveux	GUILLAIN.

MM.

Clinique des maladies infectieuses	TEISSIER.
Clinique chirurgicale	DELBET.
	HARTMANN.
	LEJARS.
	GOSSET.
Clinique ophtalmologique	TERRIEN.
Clinique urologique	LEGUEU.
Clinique d'accouchements	COUVELAIRE.
	BRINDEAU.
	JEANNIN.
Clinique gynécologique	J. L. FAURE.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	OMBRÉDANNE.
Clinique thérapeutique médicale	VAQUEZ.
Clinique oto-rhino-laryngologique	SEBILEAU.
Clinique thérapeutique chirurgicale	DUVAL.
Clinique propédeutique	SERGENT.
Professeur sans chaire	BRANCA.

II. — Agrégés en Exercice

MM.

ABRAMI	Pathologie médicale.
ALAJOUANINE	Neurologie et psychiatrie.
AUBERTIN	Pathologie médicale.
BASSET	Pathologie chirurgicale.
BAUDOUIN	Pathologie médicale.
BINET	Physiologie.
BLANCHETIÈRE	Chimie biologique.
BROCQ	Pathologie chirurgicale.
BRULÉ	Pathologie médicale.
CADENAT	Pathologie chirurgicale.
CHABROL	Pathologie médicale.
CHIRAY	Pathologie médicale.
CLERC	Pathologie médicale.
DEBRÉ	Hygiène.
DOGNON	Physique.
DONZELOT	Pathologie médicale.
DUVOIR	Médecine légale.
ÉCALLE	Obstétrique.
FIESSINGER	Pathologie médicale.
GARNIER	Pathologie expérimentale.
GATELLIER	Pathologie chirurgicale.
HARVIER	Pathologie médicale.

MM	
HEITZ-BOYER	Urologie.
HOVELACQUE	Anatomie.
HUTINEL	Pathologie médicale.
JOYEUX	Parasitologie.
LABBÉ (Henri)	Chimie biologique.
LARDENNOIS	Pathologie chirurgicale.
LEMAITRE	Oto - rhino - laryngologie.
LEROUX	Anatomie pathologique.
LÉVY-SOLAL	Obstétrique.
LHERMITTE	Pathologie mentale.
LIAN	Pathologie médicale.
MATHIEU	Pathologie chirurgicale.
METZGER	Obstétrique.
MONDOR	Pathologie chirurgicale.
MOURE	Pathologie chirurgicale.
MULON	Histologie.
PHILIBERT	Bactériologie.
QUÉNU	Pathologie chirurgicale.
RICHET Fils	Physiologie.
SÉZARY	Dermatologie et syphiligraphie
VALLERY-RADOT (Pasteur)	Pathologie médicale.
VAUDESCAL	Obstétrique.
VELTER	Ophtalmologie.
VERNE	Histologie.

III.— Agrégés rappelés à l'exercice pour le service des examens

MM.	
GOUGEROT	Pathologie médicale.
GUÉNIOT	Obstétrique.
DEMELIN	Obstétrique.
LEQUEUX	Obstétrique.
RETTERER	Histologie.
TANON	Pathologie médicale.
ZIMMERN	Physique.

IV. — Agrégés chargés de cours de clinique à titre permanent

MM.	
ALGLAVE	Clinique chirurgicale.
AUVRAY	Clinique chirurgicale.
CHEVASSU	Clinique chirurgicale.
LAIGNEL-LAVASTINE	Clinique médicale.
LE LORIER	Clinique obstétricale.

MM.	
LE REBOULLET.....	Clinique médicale infantile.
LÉRI.....	Clinique médicale.
MOCQUOT.....	Clinique chirurgicale.
PROUST.....	Clinique chirurgicale.
SCHWARTZ.....	Clinique chirurgicale.
VILLARET.....	Clinique médicale.

V. — Chargés de cours

MM. MAUCLAIRE, agrégé....	Chargé du cours de chirurgie orthopédique chez l'adulte pour les accidentés du travail les mutilés de guerre et les infirmes adultes
FREY.....	Stomatologie.
CHAILLEY-BERT.....	Education physique.
LEDOUX-LEBARD.....	Radiologie clinique.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

A MON FRÈRE

in mémoriam

A MES PARENTS

Bien faible témoignage de ma filiale affection.

A MA FEMME — A MON FILS

A M. LE PROFESSEUR E. BRUMPT

Dont j'ai été l'élève en 1921, et qui m'a fait l'honneur de présider cette thèse, j'adresse mes remerciements et mes respectueux hommages.

A MES MAITRES DE LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE PARIS & DE L'ÉCOLE DE CAEN

A MES MAITRES DE L'INSTITUT PASTEUR

MM. les Professeurs

F. MESNIL
CH. NICOLLE
E. ROUBAUD
J. DUMAS

Qui m'ont accueilli dans leurs laboratoires et m'ont prodigué leurs conseils et leurs encouragements. Qu'ils veuillent bien trouver ici l'expression de ma reconnaissance et de mon attachement.

INTRODUCTION

Nous nous apercevrons tôt ou tard, que tous les insectes hémophages, parasites de l'homme, jouent un rôle dans la transmission des maladies.

Depuis la découverte de Sir Patrick Manson concernant le rôle des moustiques dans la filariose, le champ des observations de ce genre a été sans cesse grandissant, et parmi les familles zoologiques réputées les plus inoffensives pour l'homme, se découvre chaque jour une espèce servant de chaînon dans le cycle évolutif de quelque maladie humaine peu connue ; tel est le cas récent des Simulidés dans la transmission de l'onchocercose.

Le rôle des phlébotomes en pathologie humaine, remonte à l'étude de Doerr et ses collaborateurs en 1908, où ces auteurs ont démontré que ces insectes étaient les vecteurs de la fièvre de trois jours. Ils furent bien également suspectés dans la dengue, mais actuellement sa transmission paraît être l'apanage des Culicides et particulièrement de *Stegomyia fasciata*. Dans la verruga péruvienne, les derniers travaux de Townsend sur *Phlebotomus verrucarum Town*, semblent également l'accuser, mais c'est surtout dans les leishmanioses, que ces Nématocéres paraissent jouer un rôle prépondérant. Pressat en 1905, figure un insecte qu'il incrimine comme transmettant le bouton du Nil. Sergent reconnaît dans cet insecte, un phlébotome. Quelques mois avant la publication de Pressat, relatant des expériences faites en 1904 à Biskra, son frère et lui déclaraient avoir été piqués sans résultat par

un certain nombre de phlébotomes. Depuis lors, le rôle douteux de ces insectes dans le bouton d'Orient s'est vu renforcé en 1925-1926 par les expériences de Sergent (Et. et Ed.), Parrot et leurs collaborateurs en Algérie, Adler et Theodor en Palestine, qui ont montré la réceptivité de *P. papatasii* pour *Leishmania tropica*. En 1927, des expériences analogues d'Adler et Theodor ont prouvé l'évolution possible de *L. brasiliensis*, agent de la leishmaniose américaine et *L. infantum*, agent du Kala-azar infantile, dans le tube digestif de ce même phlébotome.

Entre temps, leur intérêt au point de vue médical a redoublé grâce aux recherches de la Commission du Kala-azar aux Indes, qui a décrit tout le cycle évolutif de *L. donovani*, agent de cette maladie, chez *P. argentipes*.

Leur rôle vecteur, s'avère donc très important ; nous devons ajouter que cette étude contient plusieurs inconnues, dont la principale, est le mode de transmission naturelle. Le fait que la multiplication des formes leptomonas de *L. donovani ou L. tropica* peut se poursuivre jusque dans le pharynx de ces insectes, milite en faveur d'une transmission des virus par piqûre, mais jamais on est encore parvenu par cette voie à reproduire la maladie.

L'étude des transmissions a rendu obligatoire pour les chercheurs de se procurer de nombreux phlébotomes d'une même espèce, et vierges de toute infection ; leur élevage au laboratoire permet seul de remplir ces conditions. En effet, phénomène commun chez de nombreux Muscides supérieurs, les phlébotomes mâles sont nettement différents, mais l'étude des femelles de ces mêmes espèces nécessite pour les distinguer un examen minutieux, tant elles se ressemblent ; aussi, même pour les travaux de sys-

tématique Larrousse, dans son excellente monographie, insistait-il sur l'importance des élevages.

Ces nécessités, jointes au désir de mieux connaître le développement des formes larvaires de ces diptères, pour leur appliquer une prophylaxie plus rationnelle, ont fait éclore de nombreux travaux sur la biologie des Phlébotominés répartis principalement dans les périodiques coloniaux de langue anglaise.

Ayant eu à nous occuper de la question en 1926, en collaboration avec M. le professeur Roubaud, nous avons pensé qu'il serait utile de reprendre en cette thèse les différentes données que nous possédons sur les larves et nymphes des phlébotomes, leur élevage, en y ajoutant nos observations personnelles au cours de deux années de recherches.

HISTORIQUE

En 1907, Grassi, le premier, nous a donné une étude approfondie des formes larvaires des phlébotomes en fixant non seulement leur anatomie externe d'une façon si parfaite que ses successeurs n'ont presque rien eu à y ajouter, mais encore, en nous laissant les premières données certaines sur leur habitat et leur biologie.

Avant lui, on admettait volontiers, vraisemblablement trompés par la ressemblance de ce genre avec divers Psychodidés, que les phlébotomes avaient un développement aquatique ; Christy en Ouganda prétendait les avoir trouvés avec des larves de *Culex viridis*.

En 1908, la découverte de Doerr a suscité de nombreux travaux sur *P. papatasii*. Howlett en 1910 (1) et Marrett en 1911 ont entrepris l'élevage de ces diptères, déjà réussi partiellement par Grassi. Marrett insista nettement sur le rôle de l'humidité nécessaire dans la ponte, étudia la nutrition larvaire et leur comportement. Il obtint leur développement dans un tube humide où il avait déposé des excréments de cloportes.

Newstead étudia la même année dans sa monographie des phlébotomes maltais, la ponte et quelques différences entre les diverses espèces de larves. Il compléta les mesures de lutte anti-larvaires entreprises par Marrett à Malte. En 1915, Howlett étudia comparativement les œufs et les jeunes larves de *P. papatasii*, *P. argentipes et P. minutus*.

---

(1) Cité par Whittingham et Rook.

Waterston perfectionna les méthodes d'élevage en se servant de cellules de plâtre comme substratum et compara la valeur des divers milieux nutritifs.

Après la mise au point de Whittingham et Rook (1923) et leur étude générale sur les mesures à prendre contre la fièvre à pappatacci, il semble que cette première période de recherches prend fin.

Avec les recherches sur le rôle des phlébotomes comme vecteurs du kala-azar, une seconde ère s'est ouverte.

Smith, en 1925, et les savants de la Commission du kala-azar aux Indes, développèrent sur une plus grande échelle, les élevages de *P. argentipes* et pour ainsi dire « standardisèrent » leurs conditions. Les études entreprises en divers endroits sur les leishmanioses cutanées, n'ont fait que multiplier le nombre des chercheurs qui ont abordé ce sujet, Ashner, Rossi, etc...

TECHNIQUE

Matériel d'étude.

Parmi les phlébotomes tunisiens, trois espèces seulement ont fait l'objet de notre étude.

1) *P. papatasii* Scopoli, provenant de Douar-Chott, conservé actuellement depuis un an et demi au laboratoire d'entomologie de l'Institut Pasteur.

2) *P. perniciosus* Newstead, provenant également de Douar-Chott, conservé pendant un an en ce même laboratoire.

3) *P. parroti* Adler et Theodor, provenant de Tunis, dont nous avons suivi deux cycles successifs en 1927. Primitivement rangée, dans le genre *P. minutus* Rondani, cette espèce en a été distraite par les auteurs palestiniens qui ont basé leur étude systématique sur la morphologie des spermathèques et de l'armature buccale et pharyngienne.

Le choix des espèces étudiées a été conditionné par les captures : c'est ainsi que nous n'avons pu suivre l'élevage de *P. sergenti* Parrot, rare cette année dans les environs de Tunis, où en 1926 sa fréquence n'était déjà que de 16,6 %.

Méthode d'élevage.

Dans les élevages, nous avons suivi la méthode que nous avions arrêtée et longuement décrite, dans notre étude en collaboration avec Roubaud, en 1927. Cette méthode très simplifiée, est dérivée de celles employées par Waters-

ton (1923) et aux Indes par la Commission du Kala-azar pour *P. argentipes*.

Durant notre séjour à l'Institut Pasteur de Tunis en l'été 1927, elle nous a permis d'obtenir pour des recherches de transmission de la leishmaniose canine plus de 500 adultes de *P. papatasii* et de *P. perniciosus* et de suivre plusieurs cycles successifs des espèces étudiées.

Conservation des femelles en captivité. Alimentation.

Wenyon a pu conserver des femelles en captivité pendant 46 jours en les mettant dans un vase en terre poreuse fermé d'une gaze et qui reposait dans un plat rempli d'eau. Dans nos élevages les femelles, capturées dans la nature, sont conservées à l'étuve à + 25° C dans une cage, modèle Roubaud, à parois de gaze très fine (mailles de moins d'un millimètre), garnie d'un coton légèrement imbibé d'une solution de sucre, glucose ou saccharose. Pour *P. parroti*, vu l'exiguité de sa taille, les parois de la cage doivent être en mousseline de soie et l'on doit veiller à ce que le fil qui la retient au cadre, par tiraillement, ne produise quelques trous qui lui permettraient de s'échapper. Si ces femelles ne sont pas gravides, ce qui se reconnaît à l'état de distension et l'opacité blanchâtre de leur abdomen, elles doivent être nourries de sang. Pour *P. papatasii* et *P. perniciosus*, qui se nourrissent sur des vertébrés à sang chaud, le mieux est d'appliquer la cage sur la peau abdominale soigneusement rasée d'un chien ou même sur la face interne du bras d'un homme ; la piqûre peu douloureuse de ces insectes

peut s'accompagner d'un fort érythème ortié ; elle est suivie le lendemain d'un prurit pénible, facilement exacerbé par la chaleur ou le grattage et durant trois ou quatre jours. Dans un cas où nous avons subi, sur le même avant-bras, 70 piqûres de *P. papatasii*, à l'érythème initial a succédé une lymphangite intense, qui a duré quatre jours. *P. parroti* comme tous les phlébotomes du groupe *P. minutus*, se nourrit presque exclusivement sur les vertébrés à sang froid ainsi que l'avaient vu Roubaud, Howlett, Sergent (Edm. et Et) et leurs collaborateurs. A Tunis, nous l'avons rencontré, comme Parrot, dans tous les endroits où abondent les tarentes ; une fois même, ainsi que Roubaud l'avait observé vis-à-vis d'un lézard de la côte occidentale d'Afrique, *Agama colonorum*, nous l'avons vu entourer en voletant et poursuivre de ses piqûres une tarente *(Tarentola mauritanica* Luc.*)* qui sortait d'une crevasse de mur. On ne peut songer à le faire piquer en cage sur des lézards à travers les parois de mousseline, aussi, avons-nous eu recours au procédé suivant : on emprisonne la tête d'une jeune tarente dans un morceau de gaze que l'on lui noue autour du cou, on ramène dorsalement et entrave d'un nœud de fil ses pattes antérieures et postérieures. Ce saurien ainsi emprisonné est introduit dans la cage à *P. parroti* et y est laissé une demi-journée.

Certains auteurs, tels Howlett (1), prétendent qu'il pique l'homme, mais il nous a été impossible de nous en faire piquer, alors que ces mêmes femelles se gorgeaient sur la tarente très rapidement.

---

(1) Un exemplaire de phlébotomes capturé à Dakar en train de piquer l'homme a été adressé en 1927 par le Dr Couvy à M. Roubaud qui l'a identifié à *P. minutus*.

Isolement cellulaire pour la ponte. Conditions physiques et biologiques du milieu.

Après la digestion de ce repas sanguin ou ces repas, car parfois plusieurs sont nécessaires pour assurer la ponte, les femelles des différentes espèces, reconnues gravides, sont introduites chacune dans une cellule d'élevage afin de nous assurer que larves et nymphes que nous aurons à étudier, proviennent d'un même lot d'œufs.

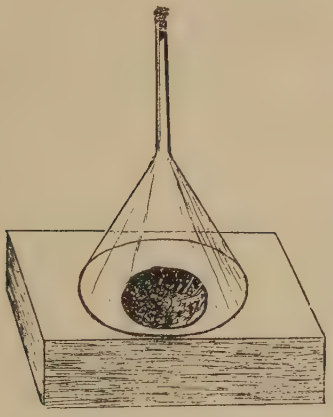

Fig. (1). Cellule d'élevage

Cette cellule d'élevage est composé d'un entonnoir renversé dont l'extrémité rétrécie est garnie d'une bourre de coton, qui coiffe une cavité creusée dans un bloc de plâtre à modeler. Cette cavité contient de la terre végétale mêlée à du sang desséché et pulvérisé ou des excréments de lézards. Nous reviendrons plus longuement sur la composition des divers milieux utilisés en traitant de la nourriture larvaire, mais nous devons signaler que l'on doit les préparer à l'avance, les chauffer à + 60° C, pour détruire toute ponte d'insectes autres et surtout de nombreux petits acariens qui vivent dans les terreaux ; on les conserve à l'étuve à + 30° C, en chambre humide pour permettre leur macération complète et éviter ainsi une surabondance de moisissures préjudiciable aux jeunes larves ; enfin on les pulvérise pour l'emploi.

Le milieu alimentaire et l'atmosphère de la cellule d'élevage ont une humidité réglée par l'apport, à travers le bloc de plâtre, de l'eau provenant d'un bain de sable contenu dans un cristallisoir et arrosé quotidiennement, mais plus ou moins, suivant le degré hygrométrique voulu. Autant que possible, on se servira de sable de grès soigneusement lavé pour le débarrasser des particules d'argile et s'il est d'origine marine du sel contenu ; on évitera aussi de se servir pour plusieurs élevages consécutifs d'un même bloc, car à la longue, il se produit une obstruction partielle des pores du plâtre par précipitation des sels dissous dans l'eau et colmatage des substances organiques.

Cet appareil est maintenu pendant tout le cycle à + 28° C, de préférence à l'obscurité ou à la lumière très diffuse.

Naturellement par économie de place, plusieurs élevages peuvent être mis côte à côte dans le même cristallisoir.

Les œufs pondus, la femelle est alors retirée et mise de côté pour identification de l'espèce ; ce qui nécessite, même pour les plus communes, le montage au baume en vue des mensurations nécessaires à l'établissement des formules palpales et antennaires. L'élevage se continue dans les mêmes conditions, mais on le surveillera chaque jour, afin de noter la date d'apparition des divers stades dont on fixera quelques spécimens ; l'on procédera de temps à autre à un léger épandage du milieu nutritif et réglera le degré d'humidité désiré variable d'ailleurs suivant le stade larvaire auquel est parvenu l'élevage. En outre, l'apport fréquent du milieu nutritif, en recouvrant le feutrage mycélien, palliera à la gêne apportée à la vie

des larves par le développement possible de quelques moisissures.

Après l'éclosion des imagos, il sera bon de récolter les exuvies nymphales. Si les femelles qui ont donné naissance à l'élevage ont été par trop détériorées post-mortem par l'humidité et les moisissures, il sera utile de fixer quelques femelles, ou surtout des mâles dont l'armature génitale permettra de contrôler la diagnose plus difficile de ces premières. Les élevages d'une même espèce ainsi sûrement constitués, grâce à cet isolement cellulaire, permettront au cycle suivant, de réunir plusieurs femelles dans une même cellule.

Méthode d'examen.

Deux méthodes d'examen sont à envisager successivement, l'examen des pièces in toto et leur préparation en vue de leur examen histologique. On examinera d'abord, les diverses formes à frais, sur le vivant, en mettant le bloc de plâtre sur la platine d'une loupe binoculaire ; cet examen seul, par exemple, permet d'étudier la couleur variable des larves, au cours de la nymphose et leurs attitudes caractéristiques.

Avant toute fixation des spécimens, larves ou nymphes, on commencera par les faire flotter quelques instants, dans un couvercle de boîte de Pétri rempli d'eau, afin de les débarrasser de toutes les particules de terre et surtout de silice qui adhèrent aux nombreuses soies des larves ou aux exuvies dont s'ornent les derniers segments abdominaux des nymphes, et qui gèneraient fort, lors de leur montage au baume ou surtout l'emploi du microtome. Cette toilette terminée et complétée par un nettoyage

à l'aide d'une fine aiguille, sous le contrôle de la loupe, on plongera l'exemplaire dans un tube d'alcool fort additionné de quelques gouttes d'éther ou de chloroforme qui permettront d'avoir le plus souvent des pièces fixées en extension.

Si nous avons une larve jeune, à cuticule chitineuse relativement mince, on aura intérêt, après une déshydration à l'alcool à 95° ou même absolu, à éviter le xylol ou le toluène qui provoquent souvent un ratatinement de la pièce, qui la rend méconnaissable, et à la monter directement dans la résine mastic en solution alcoolique, milieu préconisé à juste titre par Langeron.

Si nous avons des larves aux derniers stades, ou des nymphes, au 3me ou 4me jour de nymphose, à cuticule épaisse, nous pourrons encore nous servir de la résine mastic ou après déshydratation soigneuse et éclaircissement au toluène, monter au baume.

Les mues larvaires seront montées au baume, mais comme elles sont souvent remplies d'air, nous avons l'habitude lors de leur lavage à l'eau de les soumettre quelques instants à un vide partiel, qui en chasse les quelques bulles et d'éviter ensuite leur réintroduction en procédant dans ce même tube à la déshydratation et l'éclaircissement. On les sort ensuite et les place directement dans la gouttelette de baume déposée sur la lame où elles seront montées.

Nos essais de coloration in toto avec le carmin aluné, de larves ou nymphes fixées au formol ne nous ont pas donné les différenciations espérées, et souvent même, ce colorant ne pénètre pas la chitine ; l'hémalun en solution diluée dans l'alun de potasse à 5 % sur de jeunes larves fixées au formol n'a donné que de faibles colorations et

pas plus que le carmin ne nous permit d'étudier leur anatomie interne. Celle-ci n'a pu être suivie que sur les dissections et les coupes. Les dissections des organes larvaires se font naturellement sous le contrôle de la loupe, d'une façon analogue à celle dont on procède pour l'étude du tube digestif des anophèles dans la recherche du paludisme. Avec quelque entraînement on arrive à séparer l'ampoule rectale du dernier segment abdominal, et ensuite par traction très douce à l'aide d'une aiguille placée sur la partie postérieure de la tête, tandis qu'une autre maintient les premiers segments thoraciques, on voit émerger les diverses parties du tube digestif, les tubes de Malpighi, etc... Ces organes sont alors déposés dans une gouttelette d'eau albumineuse orientés et étalés sur une lamelle ; l'excès de liquide est épuisé à l'aide d'une pipette : la lamelle est alors retournée sur le fixateur, formol à 10 % ou liquide de Carnoy. Après fixation, on peut colorer cette dissection à l'hématéine. Cette méthode nous donne des renseignements sur la morphologie des organes entiers et nous permet une lecture plus facile des coupes.

Etude histologique.

Il est rare d'avoir de bonnes coupes de ces formes, car elles sont difficiles à fixer. Le mieux pour les larves et surtout pour les nymphes, consiste à prendre des individus jeunes venant de muer, avant que la carapace chitineuse ne forme une barrière infranchissable aux fixateurs. A ce moment, on peut fixer *in toto*, larves ou nymphes, avec divers mélanges, liquide de Dobell, Flemming fort,

liquide de Perenyi, mais le fixateur de choix semble être le liquide de Carnoy.

Pour les pièces plus chitineuses, après un court séjour préalable dans le fixateur qui les fixe imparfaitement, il vaut mieux les diviser et les laisser dans ce même liquide jusqu'à ce que le temps nécessaire se soit écoulé.

La chitine gênante lors de la fixation, ne le sera pas moins lors de l'inclusion, aussi avons-nous essayé les différents procédés préconisés dans ce but. L'inclusion à la paraffine après passage au toluène suivant la technique histologique habituelle, ne nous a donné des résultats satisfaisants que sur des exemplaires exceptionnellement favorables. Bien plus constants furent ceux obtenus grâce à la technique de Hoare (1923) (1).

Nous avons également employé les inclusions mixtes à la celloïdine-paraffine ; nous avons suivi la méthode de Patton et Cragg, c'est-à-dire avec éclaircissement par l'huile de cèdre et celle plus simple donnée par Millot. Elles peuvent être d'un grand secours dans les pièces très chitineuses.

Ayant surtout en vue ici l'étude topographique, des différents organes, nous n'avons employé que les procédés les plus simples de coloration et d'une lecture facile ; l'hémalun éosine-orange, l'hématéine éosine-safran alcoolique suivant la technique de Masson modifiée par Limousin.

---

(1) (1923) les pièces après fixation au liquide de Dobell, sont durcies et déshydratées pendant plusieurs jours dans des alcools à 90°, puis après passage dans l'alcool-chloroforme, le chloroforme, et le chloroforme saturé à chaud de paraffine, se trouvent ainsi graduellement imprégnées de cette masse d'inclusion.

LA PONTE ET L'ŒUF

Production de l'œuf. — Maturation ovulaire.

Avant d'étudier l'œuf des phlébotomes, il nous semble utile de rappeler dans quelles conditions se fait la maturation ovulaire et la ponte.

Ainsi qu'il est fréquent chez beaucoup de diptères vulnérants, la femelle des phlébotomes seule se nourrit de sang et cette hémophagie est une nécessité pour la ponte. Alors que non fécondée, plusieurs repas sanguins ne l'amènent pas, ainsi que Cristophers, Shortt, Barraud l'avaient noté dans leurs élevages de *P. argentipes ;* après l'accouplement, un seul repas peut suffir. Cet accouplement peut avoir lieu avant ou après le repas sanguin, suivant les observations de Whittingham et Rook. A l'encontre des Anophèlinés il n'est pas conditionné par le vol nuptial et s'observe parfois dans les petites cages ; il nécessite une température optima de +27 à +28° C. Au-dessous de cette température, la fécondation est incertaine et au-dessous de + 25° C, paraît manquer totalement. Faute d'avoir méconnu cette donnée on risque de perdre, comme il nous est arrivé, un élevage dont nous avions déjà suivi de nombreux cycles.

Ainsi que Grassi l'avait étudié pour les anophèles, on peut suivre dans le phlébotome d'abord distendu de sang rouge, l'apparition et l'accroissement à la partie postéro-inférieure de l'abdomen, d'une masse blanchâtre, opaque, correspondant aux ovaires.

Cette transformation du sang en réserves vitellines des ovules, se fait vraisemblablement par un mécanisme analogue à celui étudié par Nicholson pour les Culicidés. Ce temps est fonction de la température ambiante et du volume du sang ingéré.

Dans une de nos expériences, par exemple, une femelle de *P. papatasii* totalement gorgée et conservée à + 28° C, a mis trois jours à digérer son repas de sang. Rossi a noté de quatre à six jours pour des femelles de *P. perniciosus* à la température du laboratoire.

L'observation du développement ovulaire avant l'accouplement et après lui, au cours de cette maturation, a permis à Mc Combie Young, Richmond et Brendish pour *P. papatasii* de déterminer approximativement, l'âge des femelles capturées dans la nature et le laps de temps écoulé depuis le dernier repas sanguin.

L'intervalle de temps entre le repas sanguin et la ponte serait pour *P. papatasii*, d'après Ashner, de neuf jours à + 25° à + 25°,5 C ; sur divers élevages de *P. parroti*, dans nos observations, elle était en moyenne de sept jours et à + 28°,5 C, elle était réduite à quatre jours ; pour *P. perniciosus* les chiffres sont comparables et pour une température moyenne, inférieure à + 25° C, nous avons vu l'intervalle de temps atteindre jusqu'à onze jours.

Oviposition. — Choix du milieu.

La ponte a été observée en captivité pour la première fois par Newstead. « Les œufs apparaissaient comme une petite gouttelette translucide et étaient éjectés avec une force considérable à une distance environ égale à trois

fois la longueur de l'abdomen. » Les œufs sont ainsi disséminés par la femelle sur toute la surface offerte à la ponte, tantôt en marge du milieu, tantôt sur celui-ci même.

Dans un espace clos, à l'encontre de nombreux Muscides (*Musca domestica* par exemple), les femelles gravides de phlébotomes peuvent déposer leurs œufs indifféremment sur le milieu nutritif ou loin de lui, ainsi que le démontre notre expérience suivante :

Dans un large exsiccateur dont la cuvette inférieure est remplie de sable humide jouant le rôle de régulateur hygrométrique, on dispose sur le plateau médian garni d'une couche de papier filtre, un certain nombre d'amas de milieu nutritif ; on lâche à l'intérieur 5 femelles gravides. Au bout de quelques jours, on peut constater qu'elles ont toutes pondu, mais cette ponte s'est produite en majeure partie sur le papier ou sur les parois de verre de l'appareil.

Cette indifférence dans le choix des lieux où elles déposent leurs œufs explique, comme on le verra plus tard, certaines pontes accidentelles, en des endroits inaccoutumés.

Chaque œuf se présentant isolément dans l'oviducte commun, est pondu séparément. Il semble qu'il en soit ainsi dans les conditions naturelles, mais dans les élevages en tube fermé, on observe assez souvent la ponte d'une vingtaine d'œufs agglutinés en masse. Les uns et les autres d'ailleurs sont également susceptibles d'éclosion.

La Commission des Indes a obtenu plusieurs pontes d'une même femelle de *P. argentipes*. Nous suspectons la même chose pour *P. papatasii*. Nous avons obtenu, en effet, après une première ponte, une seconde maturation ovu-

laire qui n'a pas abouti, vu la mort prématurée de cette femelle. Rien de semblable n'a été observé chez *P. perniciosus*, bien que souvent après leur ponte, elles se soient gorgées plusieurs de fois sang.

Multiplicité des pontes.

Dans nos élevages, comme dans ceux de nos prédécesseurs, un grand nombre de femelles épuisées après la ponte meurent rapidement, parfois même dès le début, surtout lorsque celle-ci a lieu en tube à essai fermé avec un coton humide, l'air y étant trop saturé d'eau. Nous n'avons pu obtenir expérimentalement plusieurs survies des deux espèces, *P. papatasii et P. perniciosus* qu'en soustrayant immédiatement les femelles après leur ponte, à l'air humide de la cellule d'élevage, en les mettant en cage et les faisant piquer.

Les œufs adhèrent rapidement aux objets par la fine couche de produit visqueux dont ils sont totalement englués. Cette substance à laquelle Grassi avait reconnu une nature sébacée, est secrétée par deux glandes, les glandes accessoires ; celles-ci logées dans la partie postérieure de l'abdomen de la femelle au voisinage des ovaires, déversent le produit de leur secrétion par deux canaux qui débouchent dans l'oviducte commun.

Morphologie de l'œuf.
Distinction des espèces par l'œuf.

Ces œufs fusiformes, à bouts arrondis, rapidement jaunâtres après la ponte prennent le même jour une teinte

brun clair ; cette coloration se produit sous l'action de l'air et probablement d'une oxydase ; elle est indépendante de la vie de l'œuf, car elle se produit également au bout de quelque temps sur les œufs des femelles mortes gravides. Examinés par transparence, on voit à l'intérieur de ces œufs de grosses gouttelettes graisseuses ; le micropyle annulaire signalé par Newstead se présente sur nos préparations sous forme d'une tache plus sombre, mal délimitée à un pôle de l'œuf. Les jours suivants, la coloration de l'œuf augmente encore d'intensité ; il devient brun foncé et sur sa surface brillante par réflexion, on voit apparaître un fin réticulum, formé de stries longitudinales et transversales. Ce réticulum est surtout net dans les préparations montées au baume, quand la fine pellicule anhiste sébacée est respectée. Les stries qui composent ce réseau sont formées de ponctuations fines et serrées dont l'empreinte est nettement marquée sur la membrane anhiste dans les endroits où elle s'est détachée de l'œuf lui-même.

Les cellules délimitées par ce réseau ainsi que l'a noté Howlett pour *P. argentipes*, *P. papatasii et P. minutus*, varient suivant les espèces. Nous avons constaté entre les trois espèces : *P. parroti*, *P. perniciosus et P. papatasii* les différences suivantes dans la morphologie de l'œuf :

Chez *P. parroti*, les cellules ont bien la forme hexagonale décrite par Howlett, pour le groupe minutus, mais ce qui frappe également c'est la régularité et le peu d'épaisseur des stries qui les délimitent ; celles-ci sont réduites presque partout à deux séries de fines ponctuations parallèles. Chez *P. papatasii*, les cellules sont bien plus irrégulières et grossièrement rectangulaires : les stries trans-

versales qui le délimitent sont beaucoup plus minces que les espèces précédentes.

Chez *P. perniciosus*, les cellules sont encore rectangulaires, mais les stries transversales manquent fréquemment si bien qu'elles se poursuivent sur une grande partie de l'œuf ; les stries longitudinales sont ici encore très épaisses et formées d'un grand nombre de grosses ponctuations très serrées.

Si nous n'avons pu, comme l'a signalé Howlett, observer une différence de coloration entre les œufs des espèces diverses, il en est une autre que nous avons tenu à préciser : c'est la taille respective des différents œufs, car presque tous les auteurs n'ont donné dans leurs études que celles de *P. papatasii* et beaucoup ne donnent même pas le nom de l'espèce. 0,385 mm. × 0,12 mm. (Whittingham et Rook).

Pour les œufs étudiés, nous trouvons les dimensions suivantes :

P. papatasii ..	0,39 mm. × 0,15 mm.
P. perniciosus .	0,35 mm. × 0,12 mm.
P. parroti	0,31 mm. × 0,9-0,11 mm.

Le nombre des œufs d'une même ponte est très variable. Le meilleur procédé quand on veut les compter est non plus de faire pondre l'espèce étudiée dans une cellule d'élevage, car les œufs sont très difficiles à distinguer du milieu où ils sont déposés, mais de mettre les femelles dans le tube à essai, garni d'un coton humide suivant la méthode de Marrett, et dans lequel se trouve une languette de papier buvard. Les œufs pondus sur le verre ou sur le papier sont faciles à numérer.

Newstead estimait que chaque ovaire de *P. papatasii* contenait de 20 à 25 ovules et, d'après cette donnée, concluait avec raison que la ponte de cette espèce était de

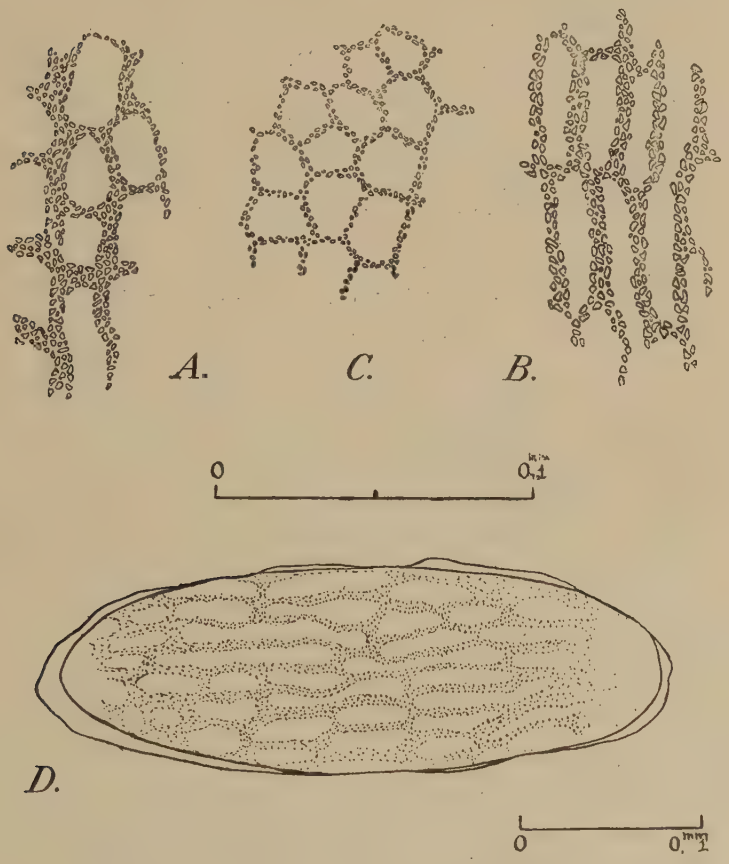

Fig. (2) Œufs et leur ornementation

a) Ornementation de l'œuf de *P. papatasii.*
b) Ornementation de l'œuf de *P. perniciosus.*
c) Ornementation de l'œuf de *P. parroti.*
d) Œuf de *P. perniciosus.*

40 œufs environ, chiffre vérifié par les auteurs : Waterston (37-38), Boyd (40) et nous même (47-44-35-49).

Chez *P. perniciosus*, le nombre des œufs est encore plus variable et les chiffres maxima sont bien plus élevés : dans nos observations ils s'élevaient à 23-27-34-44-56-61-70-72-74 œufs.

Chez *P. parroti*, nous avons eu des pontes de 15-23-38-51 œufs. Dans ces chiffres, n'entraient pas en ligne de compte ceux dont la femelle est morte au début d'une ponte, n'en ayant émis que un ou plusieurs œufs.

Action de l'humidité et de la sécheresse sur le stade ovulaire.

Nous avons déjà vu que nous conservons les œufs à + 28°-30° C. L'humidité nécessaire pour la ponte l'est également pour l'éclosion des œufs ; sa limite maxima moins importante alors est dépassée d'après Whittingham et Rook quand on voit apparaître une pellicule d'eau sur le milieu. L'humidité n'est pas aussi dangereuse que la sécheresse et ces mêmes auteurs signalent qu'une submersion de 24 heures ne les tue pas, mais les retarde dans leur développement ; prolongée au delà d'un jour, les œufs n'éclosent plus. Waterston a émis l'hypothèse qu'ils peuvent résister encore davantage. Pour Marrett, l'excès d'humidité provoquerait des lésions chez la larve, l'œuf atteindrait bien sa maturité mais la larve n'en sortirait pas et son corps aurait un aspect gélatineux, gonflé, méconnaissable.

La sécheresse agit très rapidement : la dessication en une heure ne tue pas les œufs, mais si elle se prolonge

pendant plusieurs, elle leur est fatale ; c'est là une des plus grosses causes d'échec dans les élevages. Pour Marrett, la dessication relative des œufs permettrait une survie mais produirait un retard de 3 jours, plus complète on pourrait avoir un retard atteignant 20 jours. La survie serait possible tant que l'œuf ne serait pas flétri. Cet état de l'œuf est d'ailleurs caractéristique : l'œuf est rétracté à l'intérieur de son enveloppe sébacée ; un des côtés rentrant dans l'autre, lui donne l'aspect d'une nacelle et l'a fait comparer à certains œufs d'Anophèlines.

L'éclosion des œufs, souvent nocturne, se fait à des temps variables, suivant la température.

Voici les résultats indiqués par les auteurs pour *Papatasii* :

Marrett, à + 30° C.....	cinq jours.
A la température du laboratoire..	dix jours.
Whittingham et Rook, de + 18° à + 33° C.....	neuf à dix jours.
Mac Combie et ses collaborateurs :	
A la température du laboratoire .	onze jours
Ashner de + 23° C à + 25 C..	dix à quinze jours.
de + 30° C à + 32° C..	six jours.

Dans nos élevages nous avons observé les chiffres suivants :

1) Pour *P. papatasii* :		
à + 28° C l'éclosion a lieu	neuf jours	après la ponte
à + 22°-26° C.....	douze	— —
2) Pour *P. perniciosus* :		
à + 25°-26° C.....	douze jours	après la ponte
à + 28° C.....	sept	— —
3) Pour *P. parroti* :		
à + 25°-26° C.....	six jours	après la ponte
à + 28°-28°,5 C	cinq	— —

D'après nos moyennes, *P. parroti* semble avoir un stade ovulaire plus court que les deux autres espèces pour des températures comparables.

Signes précédents l'éclosion et éclosion.

Whittingham et Rook ayant examiné des œufs complètement mûrs, où l'on reconnaissait parfaitement à travers la coque les soies caudales et la segmentation du corps de la larve, ont constaté qu'ils étaient parfois animés d'un léger mouvement de roulis.

L'éclosion due à la déchirure dorso-antérieure de la coque par la dent ovulaire, est très rapide et s'accomplit dans les différentes espèces de la même façon.

ÉTUDE ANATOMIQUE ET BIOLOGIQUE DE LA LARVE ET DE LA NYMPHE

Dans ce chapitre, nous passerons en revue, l'anatomie externe et interne de la larve et de la nymphe, leur biologie dans les élevages, et nous terminerons en comparant les divers cycles des trois espèces. Nous donnerons, chemin faisant, certains renseignements que nous avons recueillis sur les stades larvaires de *P. perniciosus* et de *P. parroti* sur lesquels nous ne possédions jusqu'alors que des données très fragmentaires.

Anatomie larvaire. Extérieur de la larve.

La larve des phlébotomes passe par quatre stades avant la nymphose. C'est donc sur une larve au quatrième stade, c'est-à-dire dans un complet développement que nous décrirons l'anatomie larvaire, pour revenir ensuite sur les différents stades précédents.

La larve de *P. papatasii*, par exemple, est une larve du type éruciforme, c'est-à-dire que son corps cylindrique segmenté, se meut à l'aide de fausses pattes, appelées par Grassi « disques suçeurs », par analogie avec certaines formations semblables des autres Psychodidés. Sa taille plus grande sur nos préparations que celle de *P. perniciosus* et surtout celle de *P. parroti* (2 mm. 5—3 mm. 4) dépasse légèrement 4 mm. Nos chiffres trouvés pour *P. perniciosus* sont trop faibles (2 mm. 45—2 mm. 85), car nous

n'avions conservé que des larves venant de subir la troisième mue et par conséquent n'ayant pas atteint leur complet développement.

La plupart des auteurs (Grassi, Marrett, Whittingham et Rook) fixent à douze le nombre des segments du corps des larves, sans comprendre la tête dans ce chiffre. Nous nous rallions plutôt à l'opinion de Christophers et Barraud qui considèrent la larve des phlébotomes comme comprenant une tête suivie de trois segments thoraciques et onze segments abdominaux ; les trois derniers segments sont plus ou moins rudimentaires. Cette division est basée sur l'embryogénie comparée et les analogies existantes avec les formations similaires chez les Culicides que ces auteurs avaient étudiées préalablement.

La tête.

La tête larvaire de *P. papatasii* est conique, plus petite que les segments normaux du corps dont elle est séparée par une sorte de cou.

Assez fortement chitineuse, et couverte de fines spinules plus petites que celles du corps, elle présente sur son vertex une formation plus claire en forme d'Y dont les deux branches se terminent aux côtés de l'armature buccale.

Comme dans les autres espèces, la surface de la tête est garnie de quatre paires dorsales de soies épineuses et de plusieurs paires de soies simples groupées autour des pièces buccales. La face dorsale présente aussi antéro-latéralement deux antennes très courtes dont le troisième

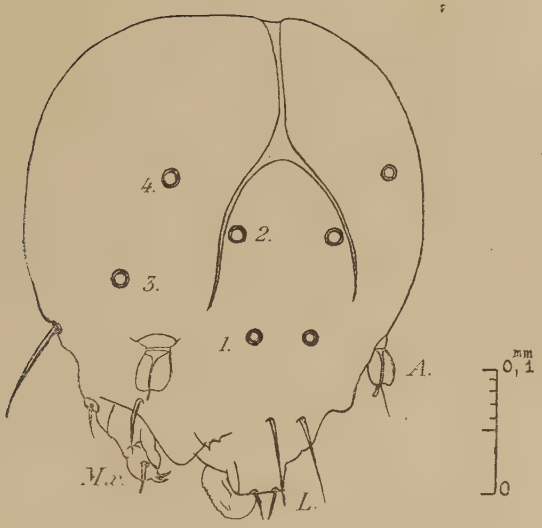

Fig. (3) Tête de larve au 4e stade de *P. perniciosus*

1 Soie épineuse antéro-interne.
2 Soie épineuse postéro-interne.
3 Soie épineuse antéro-externe.
4 Soie épineuse postéro-externe.
A = antenne.
L = labre.
Mx = maxille.

et dernier segment a une forme ovalaire très caractéristique ; il est surmonté lui-même d'un fin prolongement filiforme légèrement renflé en bouton à son extrémité.

L'armature buccale.

L'armature buccale de type broyeur comprend : un labre épipharynx, une paire de mandibules, une paire de maxilles, une plaque mentale et enfin un hypopharynx rudimentaire.

Le labre supérieur, à extrémité carrée garnie de deux soies, est prolongé d'une pièce peu chitineuse que Grassi a homologuée à l'épipharynx. Les mandibules très chiti-

neuses mais plutôt minces, ont quatre dents, la première dépassant les trois autres est plus ou moins recourbée, les deux suivantes ont à peu près la même direction, la quatrième se dirige un peu obliquement vers les trois autres.

Les maxilles sont courtes en forme de cônes tronqués, surmontés un peu excentriquement à leur extrémité d'un petit tubercule, le palpe ; elles sont épineuses et, chez *P. papatasii*, garnies de deux fortes épines recourbées. Leur face interne masticatrice est pourvue sur toute une surface ovalaire, de fines dents peu chitineuses.

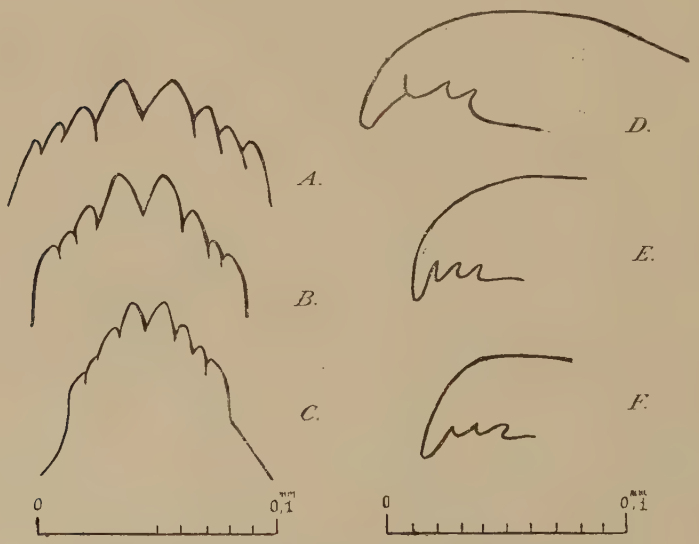

Fig. (4) Plaques mentales et mandibules larvaires

a) Plaque mentale de *P. papatasii.*
b) Plaque mentale de *P. perniciosus.*
c) Plaque mentale de *P. parroti.*
d) Mandibule de *P. papatasii.*
e) Mandibule de *P. perniciosus.*
f) Mandibule de *P. parroti.*

La plaque mentale est tout à fait comparable et a été comparée par tous ceux qui l'ont examinée à celle des Culicides ; présentant une incisure sur la ligne médiane, elle est pourvue de chaque côté, de quatre dents, à extrémité mousse, très épaisses et très chitineuses ; leur taille décroît en allant du centre à la périphérie.

Au centre, il existe une pièce plus complexe, peu visible dans les préparations, cachée qu'elle est par la plaque mentale et les autres pièces qui l'entourent, l'hypopharynx d'après Grassi.

La forme de la plaque mentale et des mandibules ainsi que l'on pourra se rendre compte sur nos tracés, est très comparable dans les trois espèces et ne peut nous être très utile en détermination, comme cela a lieu pour les Culicides.

Le corps.

Le corps cylindrique est couvert d'une cuticule épaisse finement ornée de dents courtes de coupe triangulaire.

Il présente à sa surface dorsale sur les segments thoraciques et abdominaux normaux, c'est-à-dire restriction faite des segments extrêmes, une chétotaxie tout à fait caractéristique. Celle-ci nous montre, six séries de longues soies disposées sur l'axe cylindrique du corps suivant six génératrices. Ces soies, que l'on peut appeler « soies segmentaires », s'implantent sur chaque anneau sur une ligne transversale. Il y a donc autour de la larve autant de colliers épineux qu'il y a de segments entre le premier anneau thoracique et le huitième abdominal. Ces six longues soies sont signalées par Howlett comme importantes pour la détermination larvaire, vu leur diversité

suivant les espèces. Cet auteur les a figurées pour *P. papatasii, P. minutus et P. argentipes.*

Dans l'étude comparée de nos trois espèces, nous avons pu constater une différence très marquée entre *P. parroti et P. papatasii ;* celles de *P. perniciosus* sont un peu plus longues, mais très voisines de forme de *P. papatasii.* Chez *P. papatasii,* elles sont minces, avec des épines disposées régulièrement jusqu'à l'apex et sont bien plus longues que celles de *P. parroti* ; celles-ci ont un sommet beaucoup plus large que l'implantation et leur forme rappelle celle d'un plumet.

Les soies figurées par Howlett pour *P. minutus* sont plus courtes, plus globuleuses que celles de *P. parroti* qui appartient pourtant au groupe *minutus.* Ces soies sont creuses, et leur canal médian est dessiné souvent en noir par des bulles d'air, mais elles ne semblent avoir aucun rôle secréteur ainsi que Grassi en avait émis l'hypothèse pour certains poils larvaires ; quant à leur apex, il est garni d'une sorte de protubérance festonnée, plus claire et plus ou moins saillante suivant les spécimens.

Voici quelques renseignements sur les dimensions de ces soies d'après nos mensurations :

P. papatasii. Longueur des soies segmentaires ..... 119 μ ....190 μ

P. perniciosus. Longueur des soies segmentaires ..... 185 μ ....204 μ

P. parroti. Longueur des soies segmentaires ..... 114 μ ....123 μ

Entre ces rangées de soies segmentaires, il existe toujours dorsalement, deux soies plus courtes qui, d'après Grassi, « mériteraient une étude plus minutieuse ». Nous

avons comparé ces soies que l'on peut appeler « intersegmentaires » dans nos spécimens très voisins de *P. papatasii* et de *P. perniciosus* et nous avons constaté que leur dissemblance permettait une détermination facile, ainsi que l'on peut en juger d'après les reproductions (1).

Chez *P. papatasii*, ces soies composées semblent formées, comme dans les soies segmentaires, d'un axe garni sur toute sa longueur d'épines insérées régulièrement, le tout rappelant assez la disposition des aiguilles sur l'extrémité d'une branche de pin.

Chez *P. perniciosus*, nous avons au contraire noté des soies formées par un certain nombre d'éléments partant tous ensembles de la base d'implantation et divergeant vers le haut où ils se terminent par une série d'appendices plus minces, d'aspect foliacé. Ces soies chez *P. papatasii* comme chez *P. perniciosus*, mesurent environ 38 μ. Les autres soies ventrales et latérales ne semblent pas avoir la même importance en systématique.

Thorax et abdomen.

Les trois segments thoraciques ne méritent aucune description spéciale, sauf le premier qui porte latéralement en avant et légèrement dorsalement, l'orifice stigmatique antérieur. Cet orifice est délimité par un rebord chitineux dont les épaississements vus de face lui donnent un aspect étoilé. La plupart du temps, étant surélevé sur une saillie de la cuticule, ce stigmate se présente plus ou moins obli-

(1) Nous adressons à cet occasion, nos vifs remerciements à M. Jeantet de l'Institut Pasteur de Paris pour les jolies photomicrographies qu'il a obtenues d'après nos préparations.

quement et les ornementations de l'anneau chitineux rappellent alors les pétales d'une fleur qui seraient au nombre de sept environ.

Les sept segments abdominaux qui font suite au thorax, présentent des « fausses pattes » de taille variable ; elles croissent jusqu'au cinquième segment puis décroissent ensuite.

Quand la larve se meut, elle cherche un point d'appui avec son armature buccale, puis par une sorte de reptation, rapproche ses segments abdominaux de l'extrémité antérieure qu'elle reprojettera au temps suivant.

Le huitième segment abdominal porte latéralement les orifices stigmatiques postérieurs, car ces larves sont amphipneustiques. Ils sont plus grands que les antérieurs, moins surélevés sur le tégument environnant et l'anneau chitineux qui les entoure présente des saillies linéaires, disposées radialement, au nombre d'une quinzaine. Nous avons constaté que ces formations sont analogues dans les trois espèces, si nous tenons compte de la différence de taille des larves. (v. fig. 7)

Le neuvième segment est terminé par un prolongement bilobé surmontant dorsalement le tubercule anal (10^{me} et 11^{me} segments abdominaux de Christophers et Barraud). La partie dorsale de ce segment et le quart distal de la surface dorsale du huitième, présentent une chitinisation plus marquée, d'ailleurs caractéristique de ce stade. Les prolongements ou lobes du neuvième segment sont ornés chacun d'une paire de soies caudales différentes entre elles par la longueur, ce qui permet de les distinguer en deux soies internes plus longues que les deux soies externes.

Voici à ce stade la longueur du corps et des soies caudales, pour les spécimens examinés par nous :

	long. du corps	long. de la soie interne	long. de la soie externe
P. Papatasii	2 mm 60 - 4 mm	1 mm 10 - 1 mm 25	0 mm 75 - 0 mm 80
P. Perniciosus	2 mm 45 - 2 mm 50	0 mm 95 - 1 mm 15	0 mm 75 - 0 mm 90
P. Parroti	2 mm 55 - 3 mm 4	1 mm 25 - 1 mm 60	1 mm 25 - 1 mm 80

Whittingham et Rook auraient trouvé pour :

P. Papatasii	2 mm 55 - 3 mm 78	1 mm 05	0 mm 75

Le rapport entre la longueur du corps et les soies caudales n'a pas la même valeur à ce stade, que sur les larves nouvellement écloses ; nos chiffres montrent cependant qu'il est plus petit chez *P. parroti* que chez *P. perniciosus* et *P. papatasii*.

Différents stades de la larve.

Premier Stade Larvaire

La morphologie externe des autres stades est, en effet, peu différente de celle du quatrième stade larvaire.

La jeune larve, qui vient d'éclore est encore presque toute incolore ; elle ne présente que deux taches noirâtres, les deux grandes soies caudales et la dent d'éclosion, qui sont d'ailleurs les éléments caractéristiques de ce premier stade.

Puis dans la même journée, les autres organes chitineux, les pièces buccales prennent leur teinte habituelle.

Les soies caudales ont ici une importance prépondérante pour la détermination, car les dimensions du corps, à sa sortie de l'œuf , étant sensiblement les mêmes et la longueur des soies assez fixe pour une espèce donnée, le

rapport $\frac{\text{longueur du corps}}{\text{longueur des soies}}$ serait spécifique d'après Howlett qui l'a recherché pour *P. papatasii*, *P. argentipes* et *P. minutus*.

Pour établir ce rapport, nous avons dessiné à la chambre claire les profils des diverses larves et mesuré à l'aide d'une échelle appropriée et d'un curvimètre la longueur du corps (la tête inclus) et celles des soies caudales : nous sommes arrivés aux chiffres suivants :

a) *P. papatasii*.

$$R = \frac{\text{longueur du corps}}{\text{longueur des soies}} = 1,0 — 1,1.$$

Pour Howlett :

$R = 1,2$.

Pour Whittingham et Rook d'après les chiffres donnés sur les dimensions des larves :

$R = 1,1$.

b) *P. parroti* :

$$R = \frac{\text{longueur du corps}}{\text{longueur des soies}} = 0,64 — 0,65.$$

Pour Howlett : *P. minutus* :

$R = 0,8$.

c) *P. perniciosus* :

$$R = \frac{\text{longueur du corps}}{\text{longueur des soies}} = 0,84—0,89.$$

Des quelques larves étudiées nous ne pouvons tirer des conclusions générales, mais il semble que malgré ces résul-

tats trop fragmentaires, cette méthode serait à ajouter aux nombreuses données numériques sur lesquelles reposent particulièrement la classification des phlébotomes.

Dans l'œuf, ces soies caudales sont visibles. Waterston a noté que l'on pouvait y trouver un diagnostic de l'espèce donnée, car les longues soies caudales de *P. perniciosus*, repliées sur la face ventrale de la larve dépassent légèrement la tête et atteignent la surface dorsale, tandis que chez *P. papatasii* elles finissent aussitôt après la tête.

Appareil d'éclosion

Fig. (5) Dent ovulaire de *P. perniciosus*.
b) Dent ovulaire de *P. papatasii*.

L'appareil d'éclosion ou « dent ovulaire » des auteurs anglais figuré d'abord par Howlett, est un organe chitineux impair et médian, situé à la partie postérieure du vertex. C'est l'homologue de l'organe de Künckel chez les Aphaniptères et surtout de celui décrit chez les Culicides. Toutefois sa forme diffère ici notablement de celui de *Culex pyrenaïcus*, décrit par Seguy ; ce n'est plus « une ampoule mobile surmontée d'une arête pointue ou coupante », mais plutôt une sorte de mamelon souvent plus bombé en avant qu'en arrière, de surface ovalaire, acuminé, dont la pointe courte est très chitineuse. Sa forme est sensiblement la même dans les trois espèces. Les autres organes eu égard à la taille, sont semblables à ceux du stade déjà décrit.

La mue

Lorsque la larve est arrivée à son complet développement, elle vide son tube digestif, prend un aspect cireux,

restant parfois insensible aux excitations extérieures ; elle est sur le point de muer. Marrett a le premier noté les phases de cette mue, comment la larve se redresse sur son extrémité postérieure dans l'attitude que certains auteurs ont comparé à celle d'un cobra irrité, puis semble « picorer le sol » dégage sa tête d'abord et enfin se dépouille totalement de l'exuvie larvaire.

Le même processus se reproduit à chaque mue, d'après Whittingham et Rook, c'est-à-dire quatre fois.

Caractères de divers stades larvaires

Les caractères larvaires différentiels ont été donnés par Whittingham auquel nous empruntons le tableau suivant, qui s'est montré valable pour les différentes espèces étudiées :

I STADE. —« Une seule paire de soies caudales et présence d'une dent ovulaire sur le dos de la tête, juste avant le cou.

II STADE. — « Présence de deux paires de soies caudales et pigmentation brune du dos du quart distal du dernier segment du corps » (9e segment abdominal).

III STADE. — « Présence de deux paires de soies caudales, mais peut être distingué du deuxième stade par la pigmentation brune de tout le dos du dernier segment du corps et la coloration jaune des soies ».

IV STADE. — « Relativement grande taille de la larve et pigmentation brun foncé de tout le dos du dernier segment et le centre de l'avant-dernier segment » (8e et 9e segments abdominaux). « Les soies du corps sont longues et de coloration jaune foncé ».

La taille des larves croît naturellement et voici pour *P. perniciosus* et *P. parroti* quelques chiffres relevés dans nos élevages qui nous renseigneront à ce sujet :

P. perniciosus

1er stade, longueur du corps	0 mm. 42-0 mm. 45
2e	1 mm. 12
3e	2 mm. 10
3e	2 mm. 45-2 mm. 80

P. parroti

1er stade, longueur du corps	0 mm. 50-0 mm 60.
2e	1 mm. 45
3e	1 mm. 85
4e	2 mm. 57-3 mm 4.

Anatomie interne.

Tube digestif.

Le tube digestif larvaire très simple, presque droit comprend : un pharynx, un œsophage, la valvule œsophagienne, l'estomac ou intestin moyen et l'intestin postérieur ou rectum.

Au milieu de l'armature buccale déjà décrite, s'ouvre le pharynx peu épais mais relié par de nombreux faisceaux musculaires aux parois de la tête. L'œsophage est relativement court ; sa couche musculaire sur les coupes se montre comme segmentée par la contraction d'une série de fibres circulaires. Il débouche dans l'intestin moyen au niveau du deuxième et troisième segments thoraciques par une valvule de même type que celle rencontrée dans

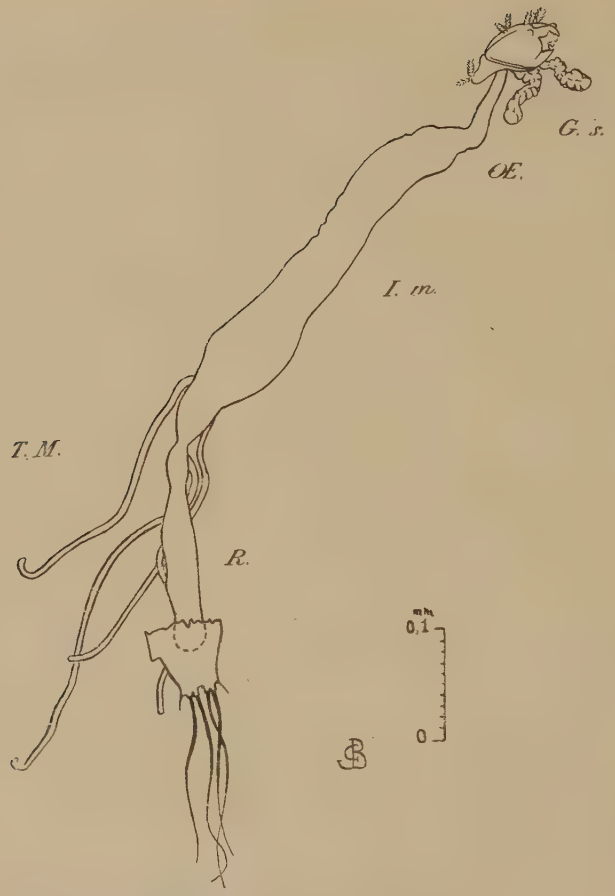

Fig. (6) Tube digestif larvaire (4e stade) de *P. papatasii*

Gs. = Glandes salivaires. Im. = Intestin moyen.
Œ. = Œsophage. Tm. = Tube de Malpighi.
R. = Rectum.

de nombreux diptères. L'intestin moyen est droit, sacciforme et occupe la majeure partie de la larve. La paroi de cet intestin moyen est garnie d'un remarquable épithélium à ciliature en brosse qui est séparé du bol fécal par une membrane péritrophique.

La limite entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur est marquée au niveau du septième segment abdominal par la naissance des tubes de Malpighi. L'intestin postérieur plusieurs fois contourné, très musculeux, est doué lui aussi comme l'œsophage, de fibres musculaires circulaires : d'abord, de forme régulière, il devient ampullaire à sa terminaison anale. Il est à signaler à ce niveau, l'existence de deux papilles exsertiles anales, bilobées, et que l'on peut voir se dévaginer et se rétracter très rapidement quand on examine les larves dans certains milieux liquides.

Christophers et Barraud croient qu'elles joueraient un rôle dans la fixation de la larve lors de la nymphose et les comparent ainsi aux branchies anales des Culicides : elles semblent avoir une grande analogie avec les papilles anales des Simulidés.

En avant de l'œsophage, l'on peut voir deux petites glandes, les glandes salivaires dont il n'est pas facile de suivre le débouché dans la cavité buccale vu l'opacité des parois céphaliques.

Leur cellules à cytoplasme granuleux ou vacuolaire, suivant le moment de la fixation, sont de taille considérable. Ceci n'est pas d'ailleurs pour surprendre, car chez d'autres Nématocères, les Chironomides, ces glandes sont très connues des cytologistes pour lesquel ils sont un matériel précieux.

Le tube digestif chez la larve au premier stade est peu différent ; il comprend un œsophage court, auquel fait suite un intestin moyen plus globuleux qu'au quatrième stade et un rectum moins contourné.

Tubes de Malpighi et système nerveux.

Les tubes de Malpighi sont au nombre de quatre.

Peu après leur origine, ils remontent très loin antérieurement le long des parois de l'intestin moyen, puis par un trajet récurrent , viennent aboutir dans la région anale. Ces tubes d'une longueur de 0 mm. 38 chez *P. papatasii*, sont formés comme chez les Culicides de grosses cellules délimitant entre elles une lumière virtuelle en zig-zag, et souvent très riches en granules graisseux ou lipoïdiques qui réduisent les fixateurs osmiés.

Le système nerveux est formé de deux ganglions cérébroïdes reliés à une chaîne ganglionnaire ventrale.

Trachées.

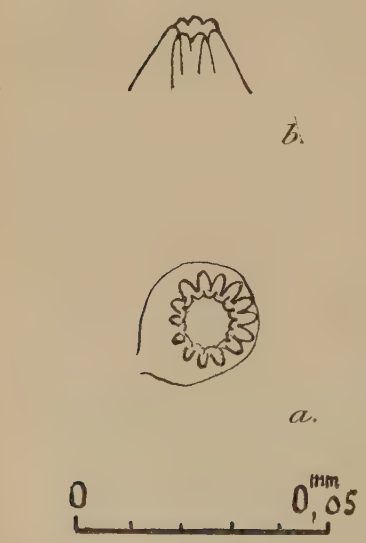

Figure (7)
a) Stigmate postérieur de larve (4me stade) de *P. perniciosus*
b) Stigmate antérieur de larve (4me stade) de *P. perniciosus*

L'appareil respiratoire est formé de deux systèmes trachéaux correspondant aux stigmates antérieurs et postérieurs, peu visibles sur les coupes et sur la larve à sec ; on peut les mettre facilement en évidence en laissant la larve séjourner vivante, une demi-journée, dans l'eau. Il semble alors que la larve s'éclaircit, et des bulles de gaz dessinent en noir tout ce fin réseau. On peut se rendre compte que, de chaque stigmate, part un tronc commun qui se divise en trois ou quatre branches principales dont les ramifications s'étendent à l'infini dans toutes les parties de la larve.

Le groupe le plus important est celui qui est relié au stigmate postérieur ; il envoie en particulier deux longs troncs latéro-dorsaux qui sont reliés entre eux par de nombreuses anastomoses.

Muscles.

La cuticule est doublée enfin par toute une couche musculaire très importante, chevauchant les différents segments de la larve. De place en place,on peut voir des fibres transversales et surtout des faisceaux allant prendre point d'appui au sommet des « fausses pattes », qui doivent jouer un grand rôle dans la locomotion.

Le tissu adipeux qui est représenté chez la larve est très peu important.

LA NYMPHE

La nymphe des différentes espèces de phlébotomes est fort différente d'aspect des larves ; beaucoup plus large à sa partie antérieure, elle va en s'effilant jusqu'à son extrémité postérieure dont les deux derniers segments sont masqués par l'exuvie larvaire, qui toute ratatinée, a été comparée par les auteurs anglais à un ancre ou un grappin. L'image est juste et rappelle non seulement l'aspect caractéristique de cette mue toute hérissée de poils, mais encore le rôle de fixation qu'elle joue pour la larve vis-à-vis des objets environnants. Le corps de la nymphe est souvent contracté en U, à concavité dorsale. Cette contraction peut se faire très rapidement sous l'influence d'une excitation quelconque.

La nymphe peut se diviser en trois parties, la tête, le thorax et l'abdomen.

La tête.

La tête est encastrée dans les segments thoraciques qui la masquent en arrière, mais ses dépendances cachent au contraire en avant, les pro, méso, et métasternites. Formée en avant par le frons garni de chaque côté par les gaînes antennaires qui s'enroulent comme les cornes d'un bélier, elle est séparée du bord antérieur du pronotum, par les yeux.

Sur la ligne médiane, pend une série de gaînes contenant divers appendices de l'adulte ; on note de dehors en dedans les gaînes des ailes, des pattes et sur la ligne médiane, celles des palpes et de la trompe.

Le thorax.

Le thorax est formé de ses trois segments notablement plus gros que les segments abdominaux. Tous présentent une crête médiane et des épines latérales. Le pronotum est pourvu de deux papilles portant les stigmates antérieurs bien moins apparents que les organes larvaires correspondants.

Les segments abdominaux qui viennent ensuite ont une section polyédrique très nette ; deux séries de lames latérales séparent les tergites des sternites.

Les tergites présentent sur la ligne médiane un sillon délimité par deux rangées de courts tubercules épineux. Grassi avait déjà noté leur présence et Newstead leur rôle en systématique chez *P. papatasii* et *P. perniciosus*. Il a insisté surtout sur leur grandeur, leur aspect squameux et la présence d'un ou deux piquants ou appendices plats à leur sommet.

Nous avons eu l'occasion de reprendre cette étude pour les trois espèces ; pour nous, leur grandeur n'est pas l'élément le plus caractéristique, mais l'organite qui les surmonte. Chez *P. perniciosus*, très visible sur les segments moyens du corps, il rappelle étrangement ces poils intersegmentaires larvaires courts et semble fait de soies fusionnées mais disposées en bouquet dont il ne resterait plus qu'une striature longitudinale ; chez *P. papatasii*, il semble y avoir une ou deux épines spatulées plus ou moins réunies à leur base ; chez *P. parroti*, nous avons constaté qu'ils sont réduits à l'état de vestiges à peine visibles, ce qui leur donne un caractère important pour la diagnose

vis-à-vis du groupe *perniciosus-papatasii,* où ils sont proéminents.

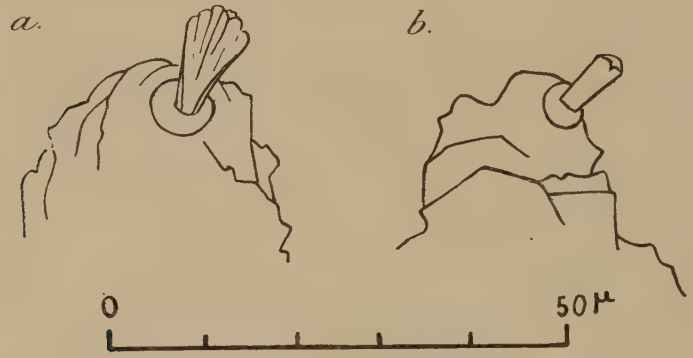

Fig. (8) *a)* Tubercule abdominal nymphal de *P. perniciosus*
b) Tubercule abdominal nymphal de *P. papatasii*

Ces tubercules font défaut du huitième au dernier segments qui sont masqués d'ailleurs par la mue larvaire, ainsi que sur les premiers segments thoraciques. Si l'on découvre sans la détériorer, l'extrémité postérieure nymphale, on voit qu'elle est formée par le huitième segment portant les stigmates postérieurs et les neuvième, dixième et onzième segments qui constituent les ébauches de l'appareil génital. Tout récemment, Christophers et Barraud ont montré que la complexité de ces ébauches est doublée comme chez les moustiques, du fait qu'après l'éclosion les rapports de ces segments (9^{e}, 10^{e}, 11^{e}) au huitième se trouvent inversés par une rotation de 180 degrés.

Les différences dans la forme de l'incurvation générale, signalées comme plus ou moins prononcées dans les diverses espèces, nous paraissent plutôt dues à l'état de contraction de la nymphe, lors de sa mort. De même, nous n'avons pu noter quelques différences précises dans la spinulation de la cuticule nymphale.

Il existe un dimorphisme sexuel dans les formes nymphales ; les femelles seraient plus grosses que les mâles qui sont plus longs.

Marrett explique cet excès de longueur des mâles par l'extension sous la mue des « claspers » ou gonapophyses supérieures. D'ailleurs, ce fait n'est pas pour nous surprendre, puisqu'il existe un dimorphisme sexuel notable chez l'imago.

La différence de taille entre les trois espèces est encore plus marquée. C'est ainsi, que mesurant les distances qui séparent le frons de la limite postérieure du septième segment abdominal de ces nymphes, nous trouvons les chiffres suivants, qui, d'après nous, doivent s'ajouter aux caractères déjà signalés.

P. parroti	1 mm. 65-1 mm. 8	moyenne	1 mm. 73
P. perniciosus	2 mm. 1 -2 mm. 5	—	2 mm. 1
P. papatasii	2 mm. 05-2 mm. 3	—	2 mm. 1

Pupaison et Eclosion de l'Imago.

Blanchâtre, lors de sa naissance, la pupe devient jaunâtre ; dans les derniers jours qui précèdent la mue, elle tend à prendre un aspect grisâtre.

La pigmentation du corps et des yeux nous révèle que l'éclosion est proche. Celle-ci se fait habituellement la nuit et nous ne l'avons vue qu'une fois ; l'imago comme chez les Culicides se dégage de la mue nymphale par une fente en T, dorso-antérieure. Les ailes se déploient dans les heures qui suivent. (1)

---

(1) Sinton, en 1925, avait déjà noté des anomalies congénitales de de l'aile consistant en une réduction d'une de ses nervures. Un de nos élevages de P. papatasii, a donné naissance à un mâle qui présentait une réduction plus sensible encore de l'aile. Celle-ci était en effet totalement laciniée et ses nervures très rudimentaires ressemblaient à une touffe de poils.

Les coupes faites dans des nymphes de *P. perniciosus* et de *P. papatasii* au début de la pupaison, nous ont montré que la nymphose se poursuit par des processus d'histolyse et d'histogénèse comparables à ceux des diptères supérieurs.

Un fait à noter au milieu de toute cette histolyse musculaire : les tubes de Malpighi larvaires sont étrangers à tout ce remaniement, et passent directement dans l'adulte.

En résumé, on voit que l'étude des divers stades dans les trois espèces nous montre une différence marquée dans l'œuf et la larve nouvellement éclose. La séparation tranchée entre le groupe *minutus* au point de vue morphologique et celui formé par *P. perniciosus* et *P. papatasii* chez l'adulte, s'affirme encore au stade larvaire.

CLEF DICHOTOMIQUE

Pour les œufs, larves et nymphes de
P. perniciosus, *P. parroti*, *P. papatasii*.

A. ŒUFS.

Œufs de grande taille (0 mm. 39 × 0 mm. 15) à surface ornée de cellules grossièrement rectangulaires et cloisons longitudinales, épaisses et irrégulières ... *P. papatasii*.

Œufs de taille moyenne (0 mm. 35 × 0 mm. 12) à surface ornée de cellules très allongées, s'étendant parfois sur un tiers de la longueur par absence de cloisons transversales. Cloisons longitudinales épaisses relativement régulières..... *P. perniciosus*

Œufs de petite taille (0 mm 39 × 0 mm 10) à surface ornée de cellules à contour polyédrique délimité par des cloisons très minces et très régulières... *P. parroti*

B. PREMIER STADE LARVAIRE.

$$\frac{\text{Longueur du corps}}{\text{Longueur des soies caudales}} = R$$

— R = 1,0 — 1,1 ..... *P. papatasii*
— R = 0,84 — 0,89 ..... *P. perniciosus*
— R = 0,64 — 0,65 ..... *P. parroti*

C. QUATRIÈME STADE LARVAIRE.

a) Grandes larves, avec soies segmentaires longues

de 119 μ — 204 μ de grosseur uniforme jusqu'au sommet ..... b

— Petites larves, avec soies segmentaires courtes de 114 μ — 123 μ plus larges au sommet qu'à la base ..... *P. parroti*

b) Soies intersegmentaires de grosseur assez uniforme et présentant des épines sur toute leur longueur ..... *P. papatasii*

— Soies intersegmentaires courtes formées d'une agglomération d'éléments disposés en bouquet, divergeant au sommet où ils se terminent par des extrémités d'aspect foliacé ..... *P. perniciosus*

D. NYMPHES.

a) Nymphes de grande taille, avec tubercules abdominaux dorsaux proéminents..... b

— Nymphes de petite taille, avec tubercules abdominaux dorsaux nuls ou rudimentaires ... *P. parroti*

b) Tubercules abdominaux dorsaux pourvus à leur extrémité d'une ou deux épines étroites et spatulées ..... *P. papatasii*

— Tubercules abdominaux dorsaux présentant un appendice large et semblant formé d'un certain nombre de soies agglomérées ..... *P. perniciosus*

BIOLOGIE LARVAIRE ET NYMPHALE

L'air saturé d'eau si nécessaire aux œufs, l'est bien moins aux larves et aux nymphes et à des degrés variables suivant le stade. Chez la jeune larve, il faut encore un air très humide ; au fur et à mesure de sa croissance, il lui devient moins utile et au quatrième stade, elle résiste longtemps à une sécheresse relative. Waterston a trouvé dans de la terre sèche depuis un mois, des larves vivant dans des fentes à l'état de vie ralentie, l'intestin vide : ce dernier signe indique qu'elles étaient sur le point de se nymphoser.

L'excès d'humidité n'est que peu préjudiciable aux larves : elles résistent aux pluies, mais d'après Whittingham elles ne pourraient supporter longtemps une submersion totale prolongée. Or, nous avons pu constater que des larves mises dans un tube rempli d'eau, un matin à dix heures, étaient encore mobiles le lendemain à la même heure.

Les conditions de la vie nymphale s'écartent encore davantage de celles de l'œuf. Marrett signalait que les pupes sont plus résistantes à l'action de l'eau que les larves ; nos expériences semblent plutôt confirmer celles de Whittingham car la submersion de la nymphe la tue en quelques heures. Si une sécheresse rigoureuse nuit aux larves au moment de la nymphose, l'hygrotropisme positif larvaire paraît inversé car celles sur le point de se nymphoser recherchent les endroits les plus secs et si le milieu

d'élevage est trop humide au lieu d'y rester, on les voit émigrer sur les parois de l'entonnoir pour y muer.

Au fond, cette question du degré d'humidité s'apprécie par expérience ; il faut garder un juste milieu, c'est pourquoi nous voyons les auteurs suivant leurs tendances et la technique employée, déclarer qu'il faut avant tout éviter la sécheresse ou l'excès d'eau.

La température optima est + 28° C + 29° C,le développement abrégé au-dessus de + 29° est compensé par une plus forte mortalité dans les élevages. Cet optima serait pour Marrett, Whittingham et Rook + 21° C + 26° C et pour Ashner + 30° C + 33° C.

Les larves sont nettement lucifuges et si on porte à la lumière une cellule d'élevage, on ne tarde pas à les voir s'enfoncer dans les nombreux trous qu'elles ont creusé à la surface du milieu.

Nourriture larvaire.

C'est Grassi qui, le premier, a étudié la nutrition des larves ; il a vu qu'elles se nourrissaient de déchets organiques d'origine animale ou végétales et d'algues unicellulaires.

Les substances les plus diverses ont été employées, mélangées à la terre pour la rendre plus appropriées à l'élevage de ces larves : excréta de cloportes (Marrett), débris de blattes (Whittingham et Rook), champignons pourris, excréments de lézards (Howlett), matières fécales, sang desséché (Waterston), etc.

Tous ces milieux conviennent également mais il nous faut éviter les milieux trop fermentescibles. Grassi avait

déjà vu que dans la nature « les larves se nourrissent de détritus organiques qui ne sont pas en pleine putréfaction ».

Pour avoir mélangé une trop forte proportion de sang desséché à notre terreau, nous avons obtenu un milieu trop favorable aux bactéries, à odeur fortement ammoniacale, qui nous a donné une série d'échecs. C'est pour cette raison qu'il convient d'abaisser le pourcentage du sang mélangé à la terre indiqué dans notre précédente note, à 14-15 % et qu'il vaut mieux préparer le milieu et le faire fermenter à l'étuve avant l'emploi. D'ailleurs, la vie bactérienne ne semble pas indispensable aux larves nouvellement écloses, ainsi que nous avons pu nous en rendre compte dans l'essai suivant.

Essai d'élevage aseptique.

La surface des œufs de *P. perniciosus* sur le point d'éclore, est aseptisée avec une solution de sublimé, suivant la technique imaginée par Wollman pour ses élevages de mouches. Ces œufs soigneusement rincés avec de l'eau stérile, sont déposés sur des tubes de gélose-peptone ordinaire recouverte d'une légère couche de sang défribriné, le 6 septembre. Plusieurs restent stériles et l'éclosion d'une larve aseptique se produit dans deux tubes le 8 septembre. Ces larves vivent à la surface du milieu ; leur tube digestif teinté en rouge montre qu'elles ont ingéré des globules. Elles vivent ainsi jusqu'au 18 septembre, soit dix jours, (alors qu'une larve nouvellement éclose, meurt le premier ou le second jour, si elle ne trouve aucune nourriture). Leur mort a eu lieu lors de la première mue.

Un milieu très favorable est formé par le mélange terre-excréta de lézards. Nous nous sommes servi d'excréments

de tarentes qui sont très riches en débris d'insectes et qui, de plus — est-ce dû à la teneur élevée en acide urique ? — ne se recouvrent jamais de moisissures comme le font ceux des herbivores dans les mêmes conditions.

On doit broyer la poudre nutritive assez finement ; toutefois un substratum formé de débris plus gros est favorable, car il brise l'homogénéité de la couche nutritive qui a tendance à s'agglomérer et permet aux larves de la pénètrer et de se cacher. Nous avons employé également des déchets végétaux, des fragments d'écorce de betterave et nous avons pu constater que les larves s'en nourrissent parfaitement.

Nous avons vu assez fréquemment les larves manger les cadavres de leurs parents : fait signalé d'abord par Marrett, qui avait vu également le canibalisme des larves des stades les plus avancés pour les stades les plus jeunes.

Rappelons que, du fait que les larves se nourrissent des tissus des adultes morts, Whittingham a émis l'hypothèse que les phlébotomes nouvellement éclos et porteurs du virus de la fièvre à papatacci, pourraient s'infecter non seulement héréditairement, mais encore par ingestion de particules infectantes provenant ainsi des cadavres dévorés.

Parasitisme larvaire.

Nos élevages se sont montrés jusqu'ici indemnes de tout parasitisme interne.

Toutefois dans l'Inde, chez *P. argentipes*, Shortt et Swaminath ont signalé une grégarine cœlomique, *Monocystis mackieri*, qui n'entravait nullement leur développe-

ment. Il est à noter également que les essais d'infection chez les larves de *P. argentipes* avec *L. donovani* tentés par Christophers et Barraud ont été négatifs.

Les commensaux sinon les parasites externes sont au contraire nombreux dans les élevages et bien que leur rôle prédateur, pour la plupart, ne puisse être nettement défini, on doit les éviter.

Nous avons fréquemment trouvé nos élevages parasités par des acariens humicoles et des blattes.

Les arthropodes les plus divers ont été signalés comme préjudiciables aux élevages par Marrett, Napier et Smith, Rossi ; ce sont des acariens (dont *Gamasus Chandleri* Ewing), des blattes, des fourmis, des pseudo-scorpions et des myriapodes.

Durée des stades

Parmi les divers facteurs qui influent sur la durée du développement, la température et l'état hygrométrique jouent un rôle prépondérant. Le rôle frénateur du froid peut même être très utile car pour les expériences de transmission, on a besoin souvent simultanément d'un grand nombre d'insectes. Or, la mise en route des élevages ne se fait que graduellement au gré des captures, ce qui donnerait une série d'éclosions très échelonnées et souvent inutilisables ; grâce au froid par contre, on peut ainsi provoquer l'éclosion en une même période, de toute une série de pontes.

Voici à titre documentaire les durées des cycles de quelques-uns de nos élevages pour une humidité voisine, à différentes températures :

P. perniciosus (+ 28° C)

Eclosion	7 jours	après la ponte.
2e stade	14 jours	— —
3e stade	16 jours	— —
4e stade	19 jours	— —
Nymphose	24 jours	— —
1e adulte	28 jours	— —

a) *P. parroti* (+ 25°,5 C)

2e stade	11 jours	après la ponte.
Nymphose	24 jours	— —
1e éclosion mâle	35 jours	— —
1e éclosion femelle	36 jours	— —
Dernière éclosion	62 jours	— —

b) *P. parroti* (+ 28° C)

Eclosion	5 jours	après la ponte.
2e stade	9 jours	— —
Nymphose	21 jours	— —
1e éclosion mâle	27 jours	— —
1e éclosion femelle	31 jours	— —
Dernière éclosion	42 jours	— —

a) *P. papatasii* (+ 22°-26° C)

Eclosion	12 jours	après la ponte.
2e stade	24 jours	— —
3e stade	36 jours	— —
4e stade	46 jours	— —
Nymphose	53 jours	— —
1e éclosion mâle	57 jours	— —

b) *P. papatasii* (+ 28° C)

Eclosion	9 jours	après la ponte.
Nymphose	33 jours	— —
1e adulte	47 jours	— —

Dans la littérature, pour *P. papatasii*, nous trouvons :

Whittingham et Rook	de (+ 18°-33° C) . .	44 jours.
Ashner	de (+ 23°-25° C) . .	60-65 jours.
—	de (+ 30°-32° C) . .	32 jours.

Nos chiffres sont assez voisins de ceux publiés par Ashner pour la même température.

Dans nos expériences, le cycle de *P. perniciosus* s'est montré plus court que ceux des autres espèces.

Dans tous nos élevages, la naissance des adultes s'échelonne sur une assez longue période ; nous avons donné les dates pour *P. parroti* qui marquent la naissance du premier et du dernier imago ; nous aurions pu faire de même pour *P. perniciosus* et *P. papatasii*.

Un autre fait est à signaler chez les trois espèces ; c'est la naissance généralement plus précoce des mâles que celles des femelles, fait commun également aux Culicides.

Voici un exemple tiré de nos élevages de *P. parroti* :

Le 28 juillet	4 mâles.
Le 29 —	1 mâle.
Le 30 —	1 mâle.
Le 1er août	2 mâles et 3 femelles.
Le 2 —	3 femelles.
Le 3 —	3 femelles.
Le 4 —	2 femelles.
Le 5 —	1 mâle et 1 femelle.
Le 7 —	1 femelle.
Le 8 —	1 femelle.

Dans certains élevages à évolution *très longue*, on peut constater l'apparition inverse d'une série de mâles tardifs. C'est ainsi que cela eut lieu dans notre cas suivant :

Un élevage de *P. perniciosus* donne en décembre des

mâles, puis des femelles. Les dernières éclosions qui ont lieu à la fin de janvier donnent 3 mâles et la toute dernière éclosion, obtenue le 15 février, est encore un mâle.

Ralentissement larvaire et torpeur spontanée ou asthénobiose.

La sécheresse, jointe au froid ont une action très nette de ralentissement sur le développement des élevages, indifféremment sur les trois espèces. Il est un autre facteur étudié par Roubaud primitivement chez les Muscides et qu'il a retrouvé chez *P. papatasii ;* nous voulons parler de cet état d'asthénobiose cyclique qui existe chez certaines espèces d'insectes, mais qu'ici semble n'atteindre dans une même ponte que certains individus.

Dans un lot de larves de *P. papatasii*, on voit, en effet, à côté d'individus à développement normal, certains exemplaires entrer au quatrième stade larvaire et y rester dans un état de vie ralentie pendant des périodes atteignant d'après Roubaud, un an. Elles vivent ainsi dans l'attente, d'une athermobiose rénovatrice leur permettant, lors de conditions plus favorables de reprendre leur développement. Leur tube digestif à l'encontre des larves en prénymphose est généralement rempli, ainsi que Grassi l'avait remarqué dans ses observations sur l'hibernation larvaire de cette espèce.

Cet état de torpeur spontanée ne cèdant qu'au froid et pouvant coïncider avec l'hiver mais non nécessairement, leur permet de supporter des températures inférieures à la température optima : mais c'est un phénomène indépendant de l'action du froid et qui n'a rien de commun avec l'influence frénatrice de cet agent sur les élevages des

diverses espèces. C'est ainsi que Roubaud signale, pour *P. perniciosus*, par exemple, des larves que nous voyons évoluer du 16 juin au 23 octobre à + 16°-22° C.

Une torpeur spontanée analogue semble avoir été observée pour *P. argentipes* par Howlett qui n'en donne d'ailleurs aucune explication « les larves qui éclosent au début de la saison froide peuvent se développer soit rapidement, soit lentement (même parmi les larves d'une même ponte) ».

Si la coïncidence de cet état d'asthénie et de la saison froide, permet à *P. papatasii* de passer ainsi l'hiver au quatrième stade et, régénéré par l'action du froid, de reprendre son cycle au printemps suivant ; pour les autres espèces, nous ne saurions préciser sous quel stade cette hibernation a lieu.

De ce que *P. papatasii* hiverne au quatrième stade larvaire, fait admis depuis Grassi par de nombreux auteurs (Marrett, Whittingham et Rook, Waterston), il ne faut pas conclure que les autres se comportent de même.

L'étude des moustiques prouve assez que deux espèces voisines comme *Anopheles maculipennis* et *Anopheles bifurcatus* qui vivent souvent dans les mêmes régions, dans les mêmes gîtes, ont à ce point de vue un comportement très différent, l'un reste à l'état larvaire pendant tout l'hiver, l'autre à l'état d'imago. Il est vraisemblable qu'il en est ainsi pour les différentes espèces de phlébotomes.

Ces manifestations d'asthénobiose pouvant entraîner un développement très ralenti des larves, permettent d'expliquer ces pullulations soudaines de phlébotomes dans certaines habitations à des époques très variables.

HABITAT LARVAIRE ET PROPHYLAXIE

Nous passerons successivement en revue les méthodes à employer pour la recherche des œufs, larves ou nymphes, leur habitat et ses conditions diverses.

Méthodes de recherche dans la nature.

La méthode la plus simple pour la recherche des différentes formes consiste en l'examen direct des échantillons de terre ou autres milieux suspects de les abriter. A cet effet, les prélèvements sont triés très soigneusement sur la platine d'une loupe binoculaire.

Nous avons déjà vu que les œufs, larves et nymphes, vu leur exiguité et les particules organiques dont elles sont généralement souillées, sont très difficiles à distinguer dans les milieux d'élevage. Cette difficulté se trouve décuplée dans la nature où leur densité est forcément bien moindre ; l'impossibilité d'atteindre les gîtes se trouvant parfois à l'intérieur de murs ou sous des dallages, jointe au peu de facilité de l'examen, expliquent l'échec de nombreux auteurs, Birt, Laughnan, Waterston et nous-mêmes dans les quelques essais que nous avons tentés au environs de Tunis (1).

(1) Aux alentours d'une masure indigène abritant de nombreux spécimens adultes de *P. papatasii* et *P. perniciosus*, nous avons examiné une dizaine d'échantillons de terre provenant des fentes et de la base des murs, ainsi que du sol des clapiers et écuries attenants, avec des résultats toujours négatifs.

Cette méthode, toujours inefficace pour les œufs est longue et fatigante ; mais elle a donné des résultats positifs à Grassi, Marrett, Newstead et Howlett. Bien des formes échappent d'ailleurs à ce contrôle, même pour ceux auxquels elle a donné les meilleurs résultats. Marrett signale par exemple, qu'un échantillon de terre où il n'avait numéré que douze larves et nymphes, mis en élevage, lui a donné 26 imagos de *P. papatasii* et qu'un autre prélèvement, dans les mêmes conditions, lui a procuré 13 imagos pour 9 formes recensées. L'erreur peut donc atteindre 46 % avec cette méthode.

D'autres auteurs tels Marrett, ont enclos les endroits suspects de recéler les larves à l'aide de gaze et autres moyens afin de contrôler leur présence par la capture des adultes qui pourraient s'en échapper ; cette expérience n'a pas donné des résultats très satisfaisants. Presque tous ceux qui ont suivi la méthode directe ont eu l'idée de mettre en élevage, soit la terre déjà triée pour contrôler leurs résultats, soit même des échantillons non étudiés ; Marrett, Newstead et King les ont simplement conservés dans un vase clos avec de la gaze ; Mitter a réalisé des conditions plus favorables en mettant ses prélèvements dans une jarre poreuse soigneusement fermée qui reposait sur un bain de sable constamment humidifié.

Cette technique permet d'obtenir toutes les formes contenues dans le milieu étudié : leur détermination est facilitée puisqu'elle s'opère sur les adultes. Elle a donné à tous d'excellents résultats.

Nous l'avons suivie également dans nos recherches en mettant la terre prélevée, dans les cellules d'élevage déjà décrites, et si nous n'avons pu recueillir des phlébotomes

elle nous a livré par contre de nombreux psychodes qui en sont très voisins au point de vue habitat.

Mc Combie Young, Richmond et Brendish ont perfectionné encore ces méthodes de recherches. Leur technique dérivée de celle de Morriss est basée sur le tamisage des échantillons et la lévigation des larves et œufs contenus dans le filtrat à l'aide de solutions salines ou sucrées de densité appropriée.

Leur appareil est formé de trois cribles métalliques à mailles décroissantes ; le dernier comptant 40 fils au pouce (0m025) est doublé extérieurement d'une mousseline qui retient le produit du dernier filtre.

Les prélèvements de terre sont jetés sur les tamis et lavés sous un faible courant d'eau jusqu'à disparition de toute particule terreuse. Les résidus restés sur le crible le plus fin et sur la mousseline sont alors transportés dans de larges cuvettes photographiques et délayés avec de l'eau ; les larves de densité légèrement supérieure à l'eau coulent au fond. « On décante les débris flottants et le liquide surnageant ; au dépôt, est alors ajouté une solution saturée de sucre blanc dans l'eau froide, puis le mélange parfaitement remué est soumis à une nouvelle sédimentation. A l'examen à la loupe ou à un œil exercé, on peut identifier toutes les larves d'insectes qui viennent à la surface», grâce à la différence de densité qui s'exerce maintenant en sens inverse. Les larves de phlébotomes sont facilement reconnaissables mais peuvent se trouver plus ou moins amputées de leur soies caudales au cours de la filtration.

Pour éviter toute perte de larve lors de la décantion, les auteurs préconisent, après avoir écumé les débris

flottants, de soustraire le liquide surnageant à l'aide d'un siphonnage prudent. Ils signalent également la nécessité pour l'étude des terres poreuses d'en traiter un volume assez grand, car dans de semblables conditions, les larves de *P. papatasii* sont très dispersées. A noter que les œufs peuvent être recueillis par cette méthode mais non les nymphes.

Gites larvaires naturels.

Dans cette revue des formes trouvées par les différents auteurs, nous laisserons de côté certaines découvertes telles que celles de Christy qui assigne un habitat liquide aux phlébotomes ; cet habitat semble plus vraisemblable pour certain genre de Psychodidés morphologiquement voisins, mais très différents au point de vue biologique. L'examen des fosses d'aisances, suspectes pour divers auteurs (Austen, etc.) n'a jamais révélé à Marrett que *Psychoda phalaenoïdes* L., mais aucun phlébotome.

Grassi, en Italie, a trouvé de nombreuses larves et nymphes de *P. papatasii* dans des caves humides, obscures et encombrées de nombreux matériaux de construction, tuiles, moellons ou briques, plus ou moins souillés de débris végétaux moisis, d'ordures diverses et d'excréments d'herbivores ; Newstead et Marrett à Malte, Mitter aux Indes ont confirmé cet habitat en signalant des gîtes de cette espèce dans des souterrains, catacombes ou celliers.

Les vieilles murailles de moellons et de pierres mal jointes, présentent de nombreux interstices qui permettent à ces minuscules diptères d'entrer à leur intérieur où ils peuvent trouver surtout au niveau et en dessous du niveau du sol, l'humidité favorable ; ils se sont montrés

à Malte très riches en larves de *P. papatasii* d'après Marrett. Cet auteur signale encore un habitat analogue de ce phlébotome dans les talus et remblais, souvent formés de pierres simplement entassés et recouverts de terre.

L'aire des étables et des poulaillers souvent recouverts d'une couche de terre mêlée à des excréments de chèvres ou de volailles, a donné des résultats positifs dans les recherches de Mitter sur *P. papatasii*, et plus tard également à Napier et Smith dans celles d'une espèce indienne *P. argentipes*. An et Brun.

Le sol lui-même, surtout s'il est argileux, présente après des périodes de sécheresse nombre de crevasses profondes, dont les ramifications peuvent abriter le développement de *P. papatasii* qui y trouve une abondante nourriture dans les matériaux organiques entraînés par l'eau de ruissellement des pluies (Mc Combie Young, Richmond et Brendish) ; l'humus végétal des vergers arrosés par de nombreux canaux d'irrigation, s'est montré très riche en divers stades de la même espèce au Soudan égyptien, d'après le travail de King ; des gîtes analogues doivent s'observer pour les espèces forestières brésiliennes, vecteurs probables de la leishmaniose américaine.

Il en est de même des débris végétaux plus ou moins transformés en terreau qui se déposent entre les rangs de briques qui entourent certains massifs et qui suivant Howlett et Mitter, abritent non seulement une quantité de cloportes et de nématodes humicoles, mais encore les stades larvaires de *P. minutus*. Naturellement tous les tas d'ordures végétales des jardins mêlés à des débris de nattes et de papiers forment un compost favorable pour cette même espèce (Howlett).

Il est à noter que parmi les détritus provenant des camps, gîtes possibles de *P. papatasii* d'après Mc Combie Young et ses collaborateurs, les boîtes de conserve qui, pleines d'eau, sont le gîte fréquent des larves de Stegomyias, remplies plus ou moins de terre peuvent jouer le même rôle vis-à-vis des phlébotomes.

Enfin, nous signalerons le gîte plus curieux encore noté par Howlett pour *P. minutus* et qui serait formé dans l'Inde par les termitières ; ce phlébotome, non seulement s'y développerait, mais encore adulte y trouverait son hôte le lézard *Hemidactylus triedrus*, lui aussi familier de ces galeries.

Conditions qui régissent les gites naturels.

Les conditions primordiales pour le développement des phlébotomes dans les divers gîtes sont les mêmes que celles observées dans les cultures : l'humidité, l'obscurité et l'alimentation azotée.

L'humidité des lieux de ponte est assurée en effet, par les suintements qui existent dans toutes les caves étudiées et dans l'eau retenue par les sols argileux, même sous la croûte superficielle la plus fendillée ; on la retrouve aussi dans l'humus riche en eau des vergers, dans les débris végétaux pourris où elle est non moins nécessaire pour assurer le développement des moisissures. Tous les auteurs depuis Grassi ont noté la présence de tuiles, briques et autres matériaux de construction en nombre de gîtes ; c'est souvent à leur face inférieure que se font les plus amples récoltes de larves sur le point de se nymphoser et de pupes.

Howlett explique ce fait en leur attribuant un rôle de condensateur vis-à-vis de la vapeur d'eau contenue dans l'atmosphère ou se dégageant du sol. Cette condition de plus se joint dans ce cas à la suivante : l'obscurité offerte par ces objets aux formes qu'ils abritent.

L'obscurité sur laquelle a insisté Marett, existe naturellement dans les caves et autres endroits sombres par définition, mais encore à l'intérieur des murs, dans les crevasses du sol partiellement obstruées de déblais, sous les dallages et sous les tas de détritus. Mitter signale que cette condition est moins indispensable toutefois à *P. minutus*, dont on trouve souvent les larves mêlées aux débris de jardin exposés à l'air libre.

La troisième condition est l'alimentation azotée ; reconnue dès les premières recherches, c'est sur sa présence constante que l'on s'est basé pour composer différents milieux d'élevage artificiel. Elle abonde partout ; les larves qui vivent à l'intérieur des murs la trouvent dans les excréments de tarentes, les nombreux débris d'insectes morts et pour d'autres, cette source d'azote est assurée dans les fragments végétaux plus ou moins souillés par les déjections animales, riches en urée ; dans les cellules d'élevage on voit fréquemment de nombreuses larves ronger les morceaux de papier filtre qui y sont déposés et qui se sont imbibés du milieu ; ce fait avait été déjà noté par Cristophers, Shortt et Barraud pour *P. argentipes*. Mc Combie Young et ses collaborateurs ont insisté cependant sur le fait que les terres trop souillées d'excréments ou d'urine ne convenaient pas pour le développement des larves ; elles se comportent en réalité comme nos milieux d'élevage trop riches en sang, fermentescibles, qui, nous l'avons vu, sont néfastes pour les jeunes stades larvaires.

Pontes occasionnelles et accidentelles.

Toutes les fois que se trouvent réunies les trois conditions citées, on peut avoir ponte et développement ; ainsi peuvent s'expliquer certains gîtes occasionnels cités par Howlett et non retrouvés par d'autres : extrémité d'une branche pourrie, tapis d'algues vertes recouvrant les parois d'un réservoir où se déversent des eaux très polluées de matières organiques. Obscurité et humidité peuvent à elles seules favoriser la ponte accidentelle d'une femelle ; Whittingham et Rook ont vu des pontes déposées sur des vêtements et dans les replis des moustiquaires par des journées chaudes et humides.

Fréquence des formes et leur densité dans les gites.

La fréquence des formes rencontrées, dépend naturellement du stade où sont parvenus les phlébotomes lors des recherches effectuées, mais aussi du mode d'examen et de la profondeur sur laquelle il porte : il varie donc suivant les auteurs ; Grassi a rencontré surtout des nymphes ou des larves en pré-nymphose et Marrett une abondance de formes larvaires.

La densité des spécimens recueillis sur une même surface est très variable : Mitter note comme un chiffre maxima 29 larves et 3 pupes dans un espace de 2' × 1',5.

La distance des gîtes aux agglomérations humaines ne semble pas excéder 82 yards, chiffre donné par Mc Combie Young et ses collaborateurs pour *P. papatasii*.

Cette distance correspond à la distance de vol des

adultes. Chez les phlébotomes forestiers du Brésil, Brumpt a constaté que l'aire de dispersion des imagos issus des pontes très localisées est faible.

Il en a donné les deux exemples suivants :

A Albuquerque Lins (Etat de Sâo-Paulo) (1) une tente est dressée, en pleine forêt vierge, le 15 Mai. Elle abrite bientôt de nombreux adultes de *P. Brumpti.*

le 16 Mai cet auteur a capturé 44 mâles et 17 femelles

17 — — — - — 43 — et 31 —

18 — — — - — 30 mâles et femelles

19 — — — - — 8 mâles et 1 femelle

20 — — — - — 3 femelles

le 21 Mai aucune capture n'a pu être faite.

Même constatation pour *P. intermedius*, au cours de son voyage d'études avec Langeron (2). Près de Rio de Janeiro, à Santa-Theresa, ces auteurs ont capturé un matin, dans un poulailler, près de quatre cents phlébotomes. L'après-midi même, ils retrouvèrent quelques unités ; le lendemain, malgré une recherche minutieuse, le chiffre des exemplaires recueillis n'était plus que de 150.

L'étroite localisation des lieux de ponte et la faible grandeur de l'aire de dispersion des imagos expliquent cet épuisement facile des stations d'adultes qui ne sont pas pour ces espèces sylvestres renouvelées par un afflux incessant provenant de multiples lieux de ponte comme pour les espèces du type *papatasii*.

---

(1) Cité in Larrousse.

(2) Communication orale de M. le Professeur Brumpt.

Quant à la fréquence des formes rencontrées en fonction des mois, les observations publiées actuellement se rapportent à des pays de régime climatique trop divers et sont trop fragmentaires pour que l'on puisse tirer quelques conclusions ; il serait très intéressant d'observer les variations sur un même gîte pendant un an et cela pour chacune des espèces étudiées ; mais déjà ce que nous savons sur *P. papatasii* et de la longévité toute spéciale des individus affectés de torpeur spontanée dont l'évolution peut nécessiter une année entière, nous fait supposer qu'en presque toute saison, il nous est possible de les rencontrer.

Prophylaxie larvaire.

La prophylaxie larvaire des phlébotomes a surtout été préconisée actuellement dans des pays méditerranéens tributaires de la fièvre à pappatacci, aux Indes et au Brésil, mais si les résultats des recherches entreprises sur le rôle des phlébotomes dans la transmission des leishmanioses se confirment, elle sera sans doute développée sur une plus grande échelle.

Il nous faut distinguer dans les mesures à prendre contre les larves et nymphes, celles qui concernent les espèces, pour ainsi dire domestiques, vivant au contact immédiat des habitations et celles de la forêt tropicale brésilienne, qui plus hygrophiles d'après Brumpt, semblent avoir une biologie différente.

Nous commencerons par passer en revue celles qui ont trait au premier groupe, auquel appartiennent les espèces tunisiennes étudiées.

Avant tout, on doit tenir à la propreté de l'entourage de toutes agglomérations humaines, supprimer l'alimentation azotée nécessaire aux larves en enlevant toutes les ordures ménagères et en procédant à leur incinération ou à leur enfouissement. Tous les auteurs s'accordent à préconiser le nivellement du sol et sa désinfection dans les endroits les plus souillés surtout dans la quinzaine qui suit les périodes d'abondance des phlébotomes adultes. Marrett conseille de procéder s'il y a lieu, sur toute la périphérie des maisons à l'enlèvement de toute végétation superficielle qui pourrait masquer quelque crevasse du sol. Il recommande même ensuite de planter de place en place, du thym et du « penny-royal » *(Hedeoma pulegioides)* dont les feuilles se sont montrées douées d'un fort pouvoir insecticide vis-à-vis des phlébotomes, mais seulement expérimentalement en tube à essai bien clos.

Les minimes fentes des sols en terre battue seront bouchées avec de sciure crésylée (Waterston) ; celles extérieures aux habitations seront désinfectées avec de la chaux ou du pétrole brut (Boyd) et ensuite comblées.

Le goudronnage ou le bétonnage du voisinage immédiat des maisons a été même envisagé par Whittingham et Rook.

Cette prophylaxie s'exercera également sur les murs. Newstead recommande de démolir toutes les vieilles murailles dont les pierres sont plus ou moins branlantes.

On vérifiera surtout les interstices entre les assises et les joints seront cimentés. Whittingham et Rook, à Malte, conseillent également de veiller à la crête des murs, qui, si elle est défectueuse, permettra aux insectes de se glisser à l'intérieur. Leur surface sera goudronnée. On redou-

blera d'attention dans les endroits humides et à la base des murs, dans le voisinage du sol.

Tous les matériaux de construction, provenant des démolitions effectuées seront si possible transportés loin des habitations ou enfouis sous une épaisse couche de terre.

Quant aux espèces sylvestres brésiliennes, Brumpt a constaté que la meilleure prophylaxie consiste dans le déboisement ; quant la forêt a cédé la place aux plantations de caféier, on ne trouve plus de phlébotomes. Cet auteur attribue en grande partie ce résultat à l'action plus directe des radiations solaires qui nous le savons sont néfastes surtout aux jeunes larves.

Cette prophylaxie ne doit pas faire abandonner toute mesure à l'égard des adultes ; ceux-ci sont encore plus difficiles à atteindre que les moustiques, aussi ne doit-on négliger aucun des moyens envisagés ; ces mesures si variées qu'elles soient, sont bien aléatoires si l'on en juge d'après les contradictions auxquelles elles ont donné lieu.

Nous ne ferons que résumer ces diverses mesures qui, développées, nous éloigneraient du cadre de notre étude.

Capturer ces insectes isolément au tube, est illusoire ; tous ceux qui ont chassé les phlébotomes, savent par expérience, comment ils peuvent se dérober dans quelque fente de mur ou se dissimuler sous les moindres moulures d'un plafond.

Les pièges lumineux employés par Mc Combie Young et ses collaborateurs aux Indes, se sont montrés bien peu efficaces pour *P. papatasii ;* les seuls exemplaires capturés appartenaient à *P. minutus*, l'un des moins agressifs pour l'homme, et *P. squamipleuris.*

Higgins, lors d'une épidémie de fièvre à pappatacci, conseilla aux hommes de coucher aux étages supérieurs, mais Parrot s'est vu piqué par ces phlébotomes sur une terrasse à douze mètres au-dessus du sol.

Les fumigations et les pulvérisations de solution de crésol à 1 % ou de mélanges d'hydrocarbures et d'essence de pyrèthre peuvent détruire les adultes cachés dans les recoins d'une pièce, mais n'empêcheront pas l'afflux nocturne de nouveaux insectes.

La moustiquaire ordinaire déjà si désagréable par les nuits orageuses et chaudes, se montrant totalement inefficace pour ces minuscules diptères, il faudrait employer du tulle à mailles plus fines (de moins d'un millimètre) ; cela aggraverait le défaut signalé et en condamne l'emploi.

De nombreuses substances dites répulsives pour ces insectes, essence de citronnelle, thymol, huile de lin, menthol, etc., c'est le camphre qui a donné le meilleur résultat, d'après Whittingham et Rook. En réalité, ces substances n'agissent toujours que d'une façon très fugace ; Mc Combie, Young et ses collaborateurs qui, pour des cas individuels, avaient eu des résultats satisfaisants avec un mélange de camphre et d'essence de citronelle, reconnaissent, que dans les collectivités les résultats obtenus ne correspondent pas à la charge onéreuse imposée.

Beaucoup d'auteurs, Marrett, etc., ont vanté à juste titre la ventilation électrique ; la sensibilité au vent des phlébotomes est très connue et il est courant de les voir disparaître pendant les périodes où l'air est particulièrement agité. La ventilation pourrait aider à supporter l'emploi des fines moustiquaires.

L'attraction animale qui s'est avéré un facteur important dans la lutte contre les anophèles, pourra être encore envisagée ici ainsi que l'a fait Larrousse. Parrot tout en déclarant que l'on ne peut lui faire jouer un rôle dans la défense contre *P. papatasii* reconnaît que de nombreux insectes capturés dans les poulaillers, s'étaient gorgés sur des oiseaux de basse-cour, Brumpt et Langeron constatent une attraction analogue pour les espèces brésiliennes citées plus haut et enfin dans leur étude sur le rôle de *P. argentipes* sur le Kala-azar indien, Napier et Smith signalent sa fréquence dans les étables et sa préférence pour le sang des bovidés.

En Tunisie, rien de semblable n'a été observé, mais l'on doit tenir compte de la situation et les conditions dans lesquelles se trouvent les poulaillers ; si les anophèles recherchent de préférence les endroits bien clos c'est encore bien plus vrai pour les phlébotomes ; c'est là une donnée dont on devra tenir compte dans toute étude de ce genre.

En outre, pour les espèces forestières, Brumpt a constaté que la meilleure mesure pour les gens qui doivent vivre dans les régions où elles abondent, les bûcherons par exemple, consiste a établir leurs campements à la lisière de la forêt ou dans de grandes clairières, à une distance des bois supérieure à la distance de vol de ces insectes, c'est-à-dire plus de deux cents mètres ; c'est là une sorte de segrégation analogue à celle qui a été conseillée contre les trypanosomiases.

Les nombreux moyens de prophylaxie tous réunis ne sont pas de trop pour lutter contre ce fléau, car il faut

l'avouer, nous sommes plutôt désarmés devant des insectes si petits, qui même dans l'enceinte cependant vérifiée de nos cages d'expériences, savent si bien utiliser le moindre trou pour nous échapper.

Phot. Jeantet.

Pl. (1) A Eclosion de *P. perniciosus*, gr. 90.
B Ponte, gr. 14,5
C Larve 4^{me} stade de *P. perniciosus*, gr. 22.

Phot. Jeantet.

Pl. (2) D Soie segmentaire de *P. parroti*, gr. 450.
E Soie intersegmentaire de *P. perniciosus*, gr. 450.
F Soie intersegmentaire de *P. papatasii*, gr. 450.
G Soie intersegmentaire de *P. perniciosus*, gr. 450.
H Soie segmentaire de *P. papatasii*, gr. 450

Phot. Jeantet.

Pl. (3) I Nymphe de *P. perniciosus* gr. 19.
J Tubercule abdominal nymphal de *P. perniciosus*, gr. 450.
K Tubercule abdominal nymphal de *P. papatasii*, gr. 450.

CONCLUSIONS

Le rôle des phlébotomes en entomologie médicale s'accroît sans cesse. Leur rôle certain dans la fièvre de trois jours s'avère comme très probable dans les leishmanioses cutanées et le Kala-azar, bien que de nouvelles recherches soient nécessaires encore sur leur transmission naturelle.

Ces études, ainsi que celles sur la systématique du genre *Phlebotomus*, nécessitent la connaissance des stades larvaires et de leurs comportement. De nombreux travaux ont déjà été publiés sur ce sujet ; nous exposons la technique d'élevage et les modes d'examen macroscopiques et microscopiques qui nous ont semblés les meilleurs. L'étude de trois phlébotomes tunisiens, *P. papatasii*, *P. perniciosus et P. parroti (P. minutus pro parte)*, pris comme exemples, nous montre que les différences très marquées entre les œufs et les larves nouvellement éclos de ces espèces, le sont bien moins entre les stades à leur complet développement et les nymphes. Cependant, même à ces derniers stades, on peut reconnaître que les différences morphologiques existent surtout entre les larves de *P. parroti* appartenant au groupe *minutus* et celles du groupe *P. papatasii-P. perniciosus*. Cette distinction des deux groupes s'ajoute à celle plus marquée chez les adultes du point de vue systématique autant que biologique.

L'étude comparée des divers cycles (dont celui jusqu'ici très peu connu de *P. parroti*) fait ressortir l'importance de la torpeur spontanée étudiée par Roubaud et montre la

nécessité d'une étude plus appronfondie des autres espèces à ce point de vue ; elle nous renseignera sur leur mode d'hibernation. Cette étude sera poursuivie dans la nature sur les lieux mêmes de ponte encore imparfaitement connus.

Nous passons en revue les différents modes de recherches des formes larvaires et leurs gîtes naturels. Malgré la diversité des lieux de ponte, on y retrouve trois conditions primordiales qui régissent également toute technique d'élevage, l'humidité, l'obscurité et une alimentation azotée. Partout où ces conditions existent, des pontes occasionnelles peuvent se produire ; même en l'absence de substances nutritives, des pontes accidentelles sont possibles.

La prophylaxie larvaire s'inspire des modifications ou de la suppression de ces conditions favorables. Elle doit se compléter d'une lutte contre les adultes qui ne négligera aucun des moyens envisagés.

Vu : *Le Doyen,*
ROGER.

Vu : *Le Président de Thèse,*
BRUMPT.

Vu et permis d'imprimer :
Le Recteur de l'Académie de Paris,
CHARLÉTY

BIBLIOGRAPHIE

Ashner (M) . Observations on the breeding of *Phlebotomus papatasii*. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. & Hyg. XX, No 7, pp. 452–454, 1927.

Austen cité par Grassi (cf. Grassi).

Birt (C) Phlebotomus fever in Malta and Crete. Jour. Roy. Army. Med. Corps. Vol. XIV, pp. 236–258, 1910.

Boyd (J. E. M) Notes on the sandflies group and some observations on the sand-fly fever at Hinaidi Cantonnement, Iraq. Jour. Roy. Army. Med. Corps. XL, No 5, pp. 350–358, 1923.

Brumpt (E) Précis de Parasitologie, 4me édition, 1927.

Christophers (S. R) and Barraud (P. J) The development of the male and female Hypopygium of Phlebotomus. Ind. Jour. Med. Res. Vol. XIII, No 4, pp. 853, 1926.

Christophers (S. R) Shortt (H. E) and Barraud (P. J) Technique employed in breeding *Phlebotomus argentipes* in Assam. Ind. Med. Res. Memoirs. No 4, pp. 173–175, 1926.

Christophers (S. R) Shortt (H. E) and Barraud (P. J) Development of the parasite of indian Kala-Azar in the sand-fly, *Phlebotomus argentipes*. Re-fed flies and further results of the feeding of sand-fly on Kala-azar cases. Ind. Med. Res. Memoirs. No 4, pp. 141–145, 1926.

Christophers (S. R) Shortt (H. E) and Barraud (P. J) The feeding of larves of *Phlebotomus argentipes*. An. and Brun. on culture of *Leishmania donovani*. Ind. Med. Res. Memoirs. No 4, pp. 155–156, 1926.

Grassi (B) Ricerche sui Flebotomi. Mem. d. Soc. Ital. d. Sci. III, pg. 353, 1907.

Higgins (J. T. D. S) Notes on cases of Phlebotomus fever at on island in the Eastern Mediterranean. Brit. Med. Jour. pg. 166, 1916.

Hoare (C. A) An experimental study of the sheep-trypanosomes (*T. melophagium* Flu, 1908) and its transmission by the sheep-ked (*Melophagus ovinus L.*) Parasitology. t. XV, pp. 365–424, 1923.

Howlett (F. M) The breeding places of Phlebotomus. Proceedings of the third meeting of the General Malaria Committee held at Madras, 18-20 Nov. 1912, Simla, pp. 209–210, 1913.

Howlett (F. M) The natural Host of *Phlebotomus minutus*. Ind. Jour. of Med. Res. 1, pp. 34–38, 1913.

Howlett (F. M) Phlebotomus habits. Jour. Trop. Med. XVI, pp. 254, 1914.

Howlett (F. M) A preliminary note on the identification of sand-flies. Bull. Entom. Res. London, VI, pp. 293–296, 1915.

King (H. H) Observations on the breeding places of sand-flies (Phlebotomus sp.) in the Anglo-Egyptian Sudan. Jour. Trop. Med. and. Hyg., XVII, pp. 2–3, 1914.

Larrousse (F) Etude systématique et médicale des Phlébotomes. Paris, 1921.

Langeron (M) Précis de Microscopie, 4me Edition, Paris, 1925.

Laughnan (W. F. M) Phlebotomus fever and papatacci flies in Aden. Jour. Roy. Arm. Corps. Vol. XXI, 4, pp. 402–405, 1913.

Limousin (H) Formes pseudoactinomycosiques des bacilles acido-résistants paratuberculeux dans les lésions qu'ils produisent. Ann. Inst. Past. t. XXXVIII, pp. 713, 1924.

Marrett (P. J) Preliminary report ou the investigation into the breeding places of the sand-fly in Malta. Jour. Roy. Arm. Med. Corps. XV, pp. 286-291, 1910.

Marrett (P. J) The life history of the Phlebotomus. Jour. Roy. Arm. Med. Corps. t. XVII, pp. 13–29, 1911.

Marrett (P. J) The Phlebotomus flies of the Maltese Islands. Jour. Roy. Arm. Med. Corps. XX. pp, 162–171, 1913.

Marrett (P. J) The Bionomics of the Maltese Phlebotomi. Brit. Med. Jour. pp. 172-173, 1915.

Mac Combie Young (T. C. W), Richmond (A. E) and Brendish (G. R). Sandflies and sand-Fly fever in the Peshawar District. Ind. Jour. Med. Res. XIII, No 4 pp. 961–1021, 1926.

Mitter (J. L) Preliminary report on an investigation into the breeding places of *Phlebotomus papatasii* and *minutus* in Lahore. Ind. Jour. Med. Res. Calcutta, VI, pp. 452–461, 1919.

Morris (L. M) Phlebotomus fever in the Eastern Mediterranean during the War, with special reference to its prevention. Jour. Roy. N. Med. Serv. IX, No 4, pp. 286–289, 1923.

Napier (L. E), & Smith (R. O. A.) A study of the bionomics of *Phlebotomus argentipes* with special reference to the conditions in Calcutta. In. Med. Res. Memoirs. No 4, pp. 161–172, 1926.

Newstead (R) The papataci flies (Phlebotomus) of the Maltese Islands. Ann. of. Trop. Med. and Parasit. Vol V,pp. 139–194. No 2. — Bull. Ent. Res. II pp. 47–78, 1911.

Newstead (R) Phlebotomus; structure and habits. Nigerrimus sp. n. Malta. Jour. Roy. Arm. Med. Corps. IX, pg. 162, 1912.

Nicholson (A. J) On the development of the ovary and ovarian eggs of a mosquito. Quart. Jour. of Microscopic. Science. Vol 65, p. III. pp. 395-448, 1921.

Parrot (L) Recherches sur l'étiologie du Bouton d'Orient (Clou de Biskra). Etude sur la biologie des phlébotomes en milieu endémique. Bull. Soc. Path. Exot. Paris. XV, No 1, pp. 80–92, 1922.

Patton (W. S) Some notes on the Arthropods of medical and veterinary importance in Mesopotamia and on their relation to disease. Part IV. Ind. Jour. Med. Res. VIII, No 2, pg. 245, 1920.

Patton (W. S) et Cragg (F. W) A text book of medical Entomology. London, Madras and Calcutta, 1923.

Rossi (P) Contribution à l'étude des Phlébotomes en Aunis. Bull. Soc. Path. Exot. XIX, No 8, pp. 705-709, 1926.

Roubaud (E) Phlébotomes de l'Afrique Occidentale française. Bull. Soc. Path. Exot. VI, pp. 126–128, 1913.

Roubaud (E) Parasitisme chez les reptiles du *Phlebotomus minutus* Rond. var. *africanus* Newstead. Bull. Soc. Path. Exot. VII, pg. 83, 1914.

Roubaud (E) L'hétérodynamie et le rôle de l'athermobiose dans le cycle évolutif de P. papatasii. Bull. Soc. Path. Exot. t. XX, No 7, pg. 613, 1927.

Roubaud (E) Longue durée de l'asthénobiose pseudo-hivernale chez *Phlebotomus papatasii*; action réactivante de l'athermobiose prolongée. Bull. Soc. Path. Exot. t. XXI, nº 2, pg. 107. 1928.

Roubaud (E) & Colas-Belcour (J) Recherches biologiques sur les Phlébotomes de la Tunisie du Nord. Arch. Inst. Past. de Tunis. t. XVI, f.I, pp. 59–80, 1927.

Roubaud (E) & Colas-Belcour (J) La torpeur hibernale et ses manifestations diverses chez nos moustiques indigènes. C. R. Ac. Sc. t. CLXXXII, pg. 871, 1926.

Shortt (H. E) Barraud (P. J) and Swaminath (C. S) Further observation on the breeding of *Phlebotomus argentipes* in Assam. Ind. Jour. Med. Res. XIII, No 4, pp. 943–946, 1926.

Shortt (H. E) and Swaminath (C. S) *Monocystis mackieri* n. sp. parasite in *Phlebotomus argentipes.* Ann & Brun. vol XV, No 2, pp. 539, 1927.

Smith (R. O. A) A note on a simple method of breeding sand-flies. Ind. Jour. Med. Res. XII, No 4, pp. 741–742, 1925.

Seguy (E) Les moustiques de France. Paris, 1923.

Theobald (M. F. V) Report on a collection of mosquitoes and other flies from East africa and the Niles provinces of Uganda. Report of Sleeping Sickness Commission No III, pg. 39, 1903.

Waterston (J) A contribution to the knowledge of sand-flies. Ann. Trop. of Med. et Par. XVI, No 1, pp. 69–92, 1922.

Wenyon (C. M) The length of life of Phlebotomus in captivity and note on a method of keeping the flies alive for experimental work. Jour. London School. of Trop. Med, II, pp. 170–171, 1913.

Whittingham (H. E) Phlebotomus fever. Lancet vol. CCIII, No 5179, pp. 186–187, 1922.

Whittingham (H. E) The life history of Phlebotomus papatasii. Proc. Roy. Soc. Med. Vol XVI (sect. trop. Diseases), pg. 45, 1923.

Whittingham (H. E) et Rook (A. F) The life history of *Phlebotomus papatasii* and its maintenance in captivity. Tran. Roy. Soc. Trop. Med et Hyg. XVI, No 5–6, pp. 262–266, 1922.

Whittingham (H. E) et Rook (A. F) Observations on the life history and bionomics of *Phlebotomus papatasii.* Brit. Med. Jour., 3285, pg. 1144, 1923.

Whittingham (H. E) et Rook (A. F) The prevention of Phlebotomus fever. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. et Hyg. XVII, No 5, pp. 290–330, 1924.

Wollman (E) Le rôle des mouches dans le transport de quelques germes importants pour la pathologie tunisienne. Arch. de Inst. Past. de Tunis. T. XVI, f. 4 pp. 347–364, 1927.

Le rôle des mouches dans le transport des germes pathogènes étudié par la méthode des élevages aseptiques. C. R. Ac. Sc. t. CLXXII, pp. 298, 1921.

Ann. Inst. Past. t. XXXV, pp. 431, 1921.

Table des Matières

pages

INTRODUCTION 9

HISTORIQUE 12

TECHNIQUE 14

Matériel d'Etude 14
Méthode d'Elevage 14
Conservation des femelles en captivité. Alimentation 15
Isolement cellulaire pour la ponte et conditions physiques et biologiques du milieu 17
Méthode d'examen 19
Etude histologique 21

LA PONTE ET L'ŒUF 23

Production de l'œuf. Maturation ovulaire 23
Oviposition. Choix du milieu 24
Multiplicité des pontes 26
Morphologie de l'œuf. Distinction des espèces par l'œuf. 26
Action de l'humidité et de la sécheresse sur le stade ovulaire 30
Signes précédents l'éclosion et éclosion 32

Etude anatomique de la larve et de la nymphe... 33
Anatomie larvaire. Extérieur de la larve..... 33
La tête..... 34
L'armature buccale..... 35
Le corps..... 37
Thorax et abdomen..... 39
Différents stades de la larve..... 41
Anatomie interne. Tube digestif..... 45
Tubes de Malpighi et Système nerveux..... 48
Trachées..... 48
Muscles..... 49

La nymphe..... 50
La tête..... 50
Le thorax..... 51
Pupaison et éclosion de l'imago..... 53

Clef dichotomique..... 55

Biologie larvaire et nymphale..... 57
Nourriture larvaire..... 58
Parasitisme larvaire..... 60
Durée des stades..... 61
Ralentissement larvaire et torpeur spontanée ou asthénobiose..... 64

Habitat larvaire et Prophylaxie..... 66
Méthodes de recherche dans la nature..... 66
Gîtes larvaires naturels..... 69
Conditions qui régissent les gîtes naturels..... 71
Pontes occasionnelles et accidentelles..... 73
Fréquence des formes et leur densité dans les gîtes..... 73
Prophylaxie larvaire..... 75

Conclusions..... 81

Bibliographie..... 83

René-P. COLAS, Imprimeur-Editeur
— Bayeux (Calvados) —